

SÉRIE : C

N° D'ORDRE : 41

N° DE SÉRIE : 2

THÈSE

présentée devant

L'UNIVERSITÉ DE RENNES

U.E.R. Sciences du Comportement et de l'Environnement

pour obtenir

Le Titre de Docteur-Ingénieur

par

Jamal Eddin HAJ-RADWAN

(Ingénieur Agronome)

Contribution à l'étude de possibilités de lutte biologique contre *Rhizoctonia solani* kuhn, principal agent de fontes de semis de cotonnier en Syrie.

Par : - déplacement des équilibres microbiens du sol
- utilisation du nématode mycéliophage *Aphelenchus avenae* Bastian.

Soutenue le 17 Avril 1974 devant la Commission d'Examen

MM. S. VILLERET

J. TOUFFET

J. COUTAUD

J. PONCHET

M. RITTER

Professeur à la Faculté des Sciences

Professeur à l'E.N.S.A.R.

Station de phytopathologie à Antibes

Station de nématologie à Antibes

Président

Examineurs

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553611_0016

SÉRIE : C

N° D'ORDRE : 41

N° DE SÉRIE : 2

THÈSE

présentée devant

L'UNIVERSITÉ DE RENNES

U.E.R. Sciences du Comportement et de l'Environnement

pour obtenir

Le Titre de Docteur-Ingénieur

par

Jamal Eddin HAJ-RADWAN

(Ingénieur Agronome)

Contribution à l'étude de possibilités de lutte biologique contre *Rhizoctonia solani* kuhn, principal agent de fontes de semis de cotonnier en Syrie.

Par : - déplacement des équilibres microbiens du sol
- utilisation du nématode mycéliophage *Aphelenchus avenae* Bastian.

Soutenue le 17 Avril 1974 devant la Commission d'Examen

MM. S. VILLERET

J. TOUFFET

J. COUTAUD

J. PONCHET

M. RITTER

Professeur à la Faculté des Sciences

Professeur à l'E.N.S.A.R.

Station de phytopathologie à Antibes

Station de nématologie à Antibes

Président

Examineurs

THESE

par M. J. J. J.

L'UNIVERSITE DE BRUXELLES

Faculté de Médecine et de Pharmacie

1878

Le Titre de Docteur-Ingenieur

par M. J. J. J.



Le Titre de Docteur-Ingenieur
par M. J. J. J.
Le Titre de Docteur-Ingenieur
par M. J. J. J.

Le Titre de Docteur-Ingenieur

Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur
Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur
Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur
Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur
Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur	Le Titre de Docteur-Ingenieur

U.E.R. issues de la FACULTE DES SCIENCES

Doyens Honoraires

M. MILON Y.
M. TREHIN R.
M. SCHMITT M.
M. LE MOAL H.
M. MARTIN Y.
M. BOCLE J.

Professeurs Honoraires

M. FREYMANN R.
M. HAGENE P.
M. POISSON R.
M. ROHMER R.
M. TREHIN R.
M. SALMON-LEGAGNEUR F.
M. des ABBAYES H.
M. MILON Y.

Maîtres de Conférences Honoraires

M. GRILLET L.
M. LECRECQ A.

Mathématiques

Professeurs

Melle. CHARPENTIER M.
M. GUERINDON J.
M. METIVIER M.
M. GIORGIUTTI I.
M. BRUNEL A.
M. TOUGERON J.C.
M. MIGNOT A.

Maîtres de Conférences & Chargés de Cours

M. LEGOUPIL J.
M. HOUDEBINE J.
M. EUVRARD D.
M. NEDELEC J.C.
M. VERJUS J.P.
M. TRILLING L.
M. FERRAND D.
M. GUIVARC'H Y.
M. KEANE M. (M.C. associé)
M. GILDELAMADRID (Prof.associé)

Physique

M. VACHER M.
M. VIGNERON L.
M. LE BOT J.
Mme ROBIN née SALOMOND
M. ROBIN S.
M. LE MONTAGNER S.
M. MEVEL J.Y.
M. MEINNEL J.

M. REGENSTREIF E.
M. BRUN P.
M. LE ROUX E.
M. DUBOST
M. GUIDINI
M. HAEUSLER C.
M. ARQUES P.Y.
M. DECAMPS E.
M. NUSIMOVICI M.A.

Chimie

M. VENE J.
M. LE MOAL H.
M. LEVAS E.
M. PELTIER D.
M. PRIGENT J.
M. JOUAN P.
M. FOUCAUD A.
M. LANG J.

M. CARRIE R.
M. GUERILLOT C.
M. KERFANTO M.
M. DABARD R.
M. GRANDJEAN D.
M. LUCAS J.
M. DUVAL J.
M. MARTIN G.

Zoologie

M. RICHARD G.
M. MAILLET P.
M. BOISTEL J.
M. RAZET P.
M. FOLLIOT R.

M. ALLEGRET P.
M. MANIEY J.
M. JOLY J.
M. POSTEL (Prof. associé)
M. LEFEUVRE J.C.

Botanique

M. VILLERET S.
M. CLAUSTRES G.
Melle GOAS M.

Melle. GOAS G.
Mme. LEMOINE C.
M. TOUFFET

Géologie

M. COGNE J.
Melle DURAND S.
M. PHILIPPOT A.

M. BOILLOT G.
M. HAMEURT J.

Le Secrétaire Général de l'Université

M. BOURDIGUEL R.

A V A N T - P R O P O S

"Celui qui ne remercie pas
les hommes ne sait pas
remercier Dieu".

Prophète MOUTAMMID

Entreprendre des travaux de recherches, rédiger et soutenir une thèse sont souvent considérés comme des tâches difficiles, longues et coûteuses. Mais quand on n'est pas autochtone et qu'il faut en plus passer de longues années pour apprendre la langue et comprendre ses finesses, s'habituer au climat et au genre de vie, ces difficultés sont encore plus grandes. Il faut naturellement beaucoup de patience, de la persévérance et surtout une volonté d'aboutir.

Dans cette période de ma vie qui m'a beaucoup apporté tant du point de vue scientifique que du point de vue humain, je dois reconnaître qu'en plus de ces volontés j'ai eu beaucoup de chance, et le facteur humain a probablement été le plus important. Tous ces travaux et ces résultats n'auraient peut-être pas vu le jour, n'auraient pas été ce qu'ils sont actuellement dans les pages qui suivent, si dès le départ je n'avais pas vécu dans mon équipe de recherches un réel climat de tolérance, d'amitié, de compréhension et d'encouragement. A côté d'une démarche visant une acquisition scientifique sous forme d'un diplôme officiel, n'est-il pas aussi important dans la vie d'un homme, sinon plus important, de connaître des gens d'autres horizons, de les comprendre, d'apprendre à cohabiter avec eux et de les respecter ?

C'est tout d'abord et avant tout pour cet aspect humain, encourageant et pour cette manifestation d'amitié qui m'ont permis de m'intégrer rapidement à l'équipe de recherche et de poursuivre patiemment mes efforts que j'exprime toute ma reconnaissance et tous mes remerciements à toutes les personnes que j'ai cotoyées pendant les trois années d'études passées à l'Institut National de la Recherches Agronomiques de Rennes.

Tous mes remerciements vont d'abord à Monsieur le Professeur VILLERET, de l'Université de Rennes, qui a bien voulu m'accepter à Rennes et dont la générosité d'esprit a été sans faille et sans limite envers moi pour

me prodiguer conseils et orientation, desquels dépend pour l'essentiel le succès de mon travail.

Je dois aussi des remerciements chaleureux à Monsieur le Professeur COUTAUD, Directeur du laboratoire de Pathologie Végétale et Monsieur MISSONNIER, Directeur du laboratoire de Zoologie de l'I.N.R.A. de Rennes, qui ont bien voulu m'accepter comme chercheur dans leurs laboratoires au même titre que ceux qui relèvent de leurs directions personnelles et qui ont aimablement mis à ma disposition tous les moyens et le matériel de recherche dont ils disposent.

Au cours de mon travail j'ai été amené à suivre un stage à l'I.N.R.A. d'Antibes (06), pour faire un essai en plein champs, Messieurs PONCHET et RITTER respectivement Directeur du laboratoire de Pathologie Végétale et Directeur de la Station de Recherches sur les Nématodes m'ont, non seulement accepté dans leurs établissements et fourni tous les moyens nécessaires à mon étude, mais en plus discuté et corrigé ma thèse. Le jour de la soutenance ils ont même accepté de se déplacer à Rennes pour faire partie des membres du jury avec Monsieur le Professeur TOUFFET. Je leur exprime toute ma reconnaissance et qu'ils soient tous vivement remerciés.

Par ailleurs je n'oublierai pas de remercier Messieurs JOURN et LEMAIRE, chargés de recherches à l'I.N.R.A. de Rennes avec lesquels j'ai travaillé très étroitement et profité de leurs travaux et résultats sur les questions de lutte biologique. Je leur dois beaucoup, aussi, bien pour les conseils scientifiques qu'ils m'ont souvent prodigués, que pour la correction de ma thèse. A Monsieur CAUBEL, chargé de recherches et Monsieur BOSSIS du laboratoire de Zoologie de l'I.N.R.A. de Rennes, je dois l'essentiel de mes résultats sur l'utilisation de Nématode en lutte biologique. Monsieur LECLERCH, Maître de Conférence à l'E.N.S.A., Monsieur LENORMAND, chargé de recherches et Monsieur HINGAND du laboratoire de Bactériologie de l'I.N.R.A. de Rennes, m'ont offert avec sympathie et gentillesse des conseils scientifiques et aidé dans le domaine des analyses microbiologiques.

Toute l'équipe du laboratoire de Pathologie Végétale et particulièrement Madame SAILLY, Monsieur PERRATON et Madame SANSON n'ont pas ménagé leur temps à mon égard pour m'aider à noter les résultats et donner des conseils très pratiques.

Ma pensée reconnaissante se tourne aussi vers Mesdames SIMON, ROQUIER,

LE CAM, BEAUDIE et Mademoiselle BOULLE¹ qui ont patiemment veillé aux travaux de présentation et de dactylographie de cette thèse.

Enfin, je tiens à exprimer toute ma gratitude et tous mes remerciements, avant de le faire de vive voix à mon retour en Syrie, à tous les membres du Bureau de Coton du Ministère de l'Agriculture et Réforme Agraire de la République Arabe Syrienne et tout particulièrement à Monsieur CHAMI, Directeur de cet organisme et Messieurs les Ingénieurs Agronomes AMMOUNE, HETAL et TALEB, qui m'ont fourni, avec beaucoup d'efficacité et compréhension, toute la documentation et le matériel, dont j'avais besoin, tout au long de mon travail.

Les remerciements seuls et la compréhension peuvent-ils suffire pour des personnes qui vous aident à franchir un pas important dans la vie ? Ne faudrait-il pas faire sième une sagesse que révèle très profondément ce proverbe arabe :

"A qui m'apprend une lettre, je dois mon être".

- S O M M A I R E -

	<u>Page</u>
 <u>CHAPITRE I.</u>	
<u>GENERALITES.</u>	
A - <u>QUELQUES CARACTERISTIQUES BOTANQUES ET AGRONOMIQUES DU COTON...</u>	1
B - <u>BREF HISTORIQUE DE LA CULTURE DU COTON DANS LE MONDE.....</u>	3
C - <u>LA CULTURE DU COTON EN SYRIE.....</u>	6
1 - Historique et importance économique actuelle.....	6
2 - Quelques particularités de la culture du Coton en Syrie	9
3 - Les principaux problèmes phytosanitaires de la culture du Coton en Syrie.....	11
a) - Les mauvaises herbes	11
b) - Les insectes	12
c) - Les maladies cryptogamiques	13
1. La bactériose	13
2. La verticilliose	13
3. Les fontes de semis	14
D - <u>ORIENTATION GENERALE DU TRAVAIL.....</u>	15
 <u>CHAPITRE II.</u>	
<u>MATERIEL ET TECHNIQUES.</u>	
A - <u>LA PLANTE-HOTE.....</u>	19
B - <u>LES AGENTS PHYTOPATHOGENES.....</u>	21
1 - L'isolement des parasites	21
a) - Milieu sélectif	23
b) - Technique des appâts	23
c) - La technique de la lame-piège.....	24
2 - La préparation de l'inoculum (pour les essais <u>in vitro</u> et en terre).....	26
 <u>CHAPITRE III.</u>	
<u>LES AGENTS PHYTOPATHOGENES RESPONSABLES DE FONTES DE SEMIS DU COTON.</u>	
A - <u>RESULTATS DES ISOLEMENTS.....</u>	28
1 - A partir de plantules.....	28
2 - A partir de semences	28
3 - A partir de tiges de Coton atteintes de flétrissement	28
4 - A partir d'échantillons de sol.....	29

B - <u>QUELQUES CARACTERISTIQUES DES CHAMPIGNONS ISOLES</u>	29
1 - Action de la température sur la croissance des champignons isolés.....	32
2 - Action de la température sur la virulence des champignons isolés.....	32
C - <u>QUELQUES PARTICULARITES BIOLOGIQUES DE R. solani</u>	36
D - <u>MANIFESTATIONS DES ATTAQUES DE R. solani SUR LE COTON. STADES DE SENSIBILITE DE LA PLANTE</u>	38
E - <u>SPECIFICITE PARASITAIRE DE R. solani. CHOIX DES SOUCHES EXPERIMENTALES</u>	43
1 - Tests <u>in vitro</u>	43
2 - Tests <u>in vivo</u>	44

CHAPITRE IV.

LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE R. solani DU COTON PAR DEPLACEMENT DES EQUILIBRES MICROBIENS DU SOL.

A - <u>INTRODUCTION</u>	49
B - <u>COMPARAISON DE L'EFFICACITE DE DIVERS SUBSTRATS</u>	49
1 - Premier essai.....	49
a) - Protocole expérimental.....	49
b) - Résultats du premier semis : effet direct.	50
c) - Résultats du deuxième semis : arrière-effet.....	53
d) - Discussion.....	56
2 - Deuxième essai.....	58
a) - Protocole expérimental.....	58
b) - Résultats du premier semis : effet direct.....	59
c) - Résultats du deuxième semis : arrière effet.....	63
d) - Discussion	67
C - <u>RECHERCHES SUR LE MODE D'ACTION DES SUBSTRATS</u>	68
1 - Recherche d'antagonismes au niveau de la microflore globale du sol.....	68
2 - Etude en modèle de l'action des substrats.....	69
a) - Description du modèle expérimental	69
b) - Premier essai.....	71
1. Dispositif expérimental.....	71
2. Notations.....	71
- Formation des sclérotés dans les boîtes.....	71
- Observations microscopiques des lames.....	72
- Les résultats des semis en pots.....	73
c) - Deuxième essai.....	80
1. Dispositif expérimental	80
2. Observations sur le champignon.....	80
3. Analyses microbiologiques	81
- Activité des groupements fonctionnels.....	81
- Résultats des analyses sur milieux gélosés.....	82
. Microflore des terres.....	82
. Microflore des lames-pièges.....	84
4. Pouvoir infectieux des terres.....	87
5. Conclusion.....	88

D - <u>DISCUSSION-CCONCLUSION SUR LE DEPLACEMENT DES EQUILIBRES MICROBIENS DU SOL.....</u>	94
--	----

CHAPITRE V.

<u>LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE R. solani KÜHN PAR UTILISATION DU NEMATODE MYCOPHAGE Aphelenchus avenae BASTAIN 1865 (Nematoda-Tylenchida)</u>	97
---	----

A - <u>GENERALITES.....</u>	97
-----------------------------	----

B - <u>MATERIEL ET METHODES.....</u>	100
--------------------------------------	-----

1 - Extraction des nématodes	100
a) - A partir du sol.....	100
1. Méthode par décantation.....	101
2. Méthode par centrifugation.....	101
b) - A partir de culture de champignons.....	101

2 - Le comptage.....	102
----------------------	-----

3 - Désinfection et manipulation des nématodes.....	102
---	-----

4 - Techniques d'observation.....	104
-----------------------------------	-----

C - <u>CARACTERISTIQUES TAXONOMIQUE ET BIOLOGIQUE D'A. avenae.....</u>	105
--	-----

1 - Systématique.....	105
-----------------------	-----

2 - Morphologie.....	105
----------------------	-----

3 - Biologie	106
--------------------	-----

4 - Nutrition et mécanisme d'attaque	109
--	-----

5 - Aptitude à la conservation.....	111
-------------------------------------	-----

a) - Survie après dessiccation.....	111
-------------------------------------	-----

b) - Survie aux basses températures.....	114
--	-----

1. Nématodes et champignon sur malt liquide.....	114
--	-----

2. Nématodes et champignon sur malt gélosé.....	114
---	-----

3. Suspension de nématodes sur perlite.....	116
---	-----

c) - Survie après aération en suspension aqueuse.....	116
---	-----

d) - Conclusion.....	117
----------------------	-----

D - <u>ETUDES EXPERIMENTALES DE L'ELEVAGE d'A. avenae.....</u>	118
--	-----

1 - Choix du champignon.....	118
------------------------------	-----

2 - Choix du support de culture.....	120
--------------------------------------	-----

a) - Conditions stériles.....	120
-------------------------------	-----

1. Vermiculite.....	120
---------------------	-----

2. Pailles + malt.....	120
------------------------	-----

3. Pailles seules.....	120
------------------------	-----

b) - Conditions semi-stériles.....	121
------------------------------------	-----

c) - Conditions naturelles.....	121
---------------------------------	-----

3 - Conclusions.....	121
----------------------	-----

E - <u>ETUDES DES MODALITES D'APPLICATIONS DES NEMATODES EN LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE R. solani DE COTON.....</u>	122
---	-----

1 - Dispositif expérimental.....	122
----------------------------------	-----

2 - Résultats.....	123
--------------------	-----

a) - Le pourcentage des graines levées.....	124
b) - Plantules vivantes en fin d'essai.....	124
c) - Intensité de la maladie.....	124
d) - Poids frais total des plantules	124
3 - Estimation de l'arrière effet de ces traitements.....	126
4 - Conclusion.....	126
F - <u>ETUDE DES POSSIBILITES D'UTILISATION COMBINEE DES SUBSTRATS</u> <u>ET DES NEMATODES</u>	129
1 - Dispositif expérimental	129
2 - Résultats.....	130
3 - Discussion.....	130
G - <u>DISCUSSION ET CONCLUSION SUR L'UTILISATION D'Aphelenchus avenae</u>	133
<u>CONCLUSION GENERALE</u>	139
<u>ANNEXE</u>	142
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	145

- CH A P I T R E I -

GENERALITES.A - QUELQUES CARACTERISTIQUES BOTANIQUES ET AGRONOMIQUES DU COTON.

Le coton appartient à la famille des Malvacées et au genre Gossypium qui comprend une cinquantaine d'espèces (A. CHEVALIER, 1954) annuelles ou vivaces. Le nombre d'espèces décrites est d'ailleurs variable selon les auteurs et les critères taxonomiques retenus. En se basant sur des caractéristiques cytologiques, génétiques, géobotaniques, de répartition géographique, HUTCHINSON, SILOW et STEPHENS (in CHAMI, 1965) ont défini 20 espèces dont 5 sont cultivées pour leur production de fibres. Ces dernières comprennent deux groupes :

- . les cotonniers du nouveau monde à $n = 26$ chromosomes
- . les cotonniers de l'ancien monde à $n = 13$ chromosomes

Les espèces non cultivées à $n = 13$ chromosomes sont réparties en 6 groupes, le tableau 1 résume cette classification.

Les espèces cultivées de Cotonnier ont un système racinaire pivotant s'enfonçant profondément dans le sol (jusqu'à 1 m), CHAMI, 1965). Sur la tige verticale pouvant atteindre 3 m, prennent naissance les Monopodium, et les Sympodium qui portent les fleurs. Les boutons floraux apparaissent 30 à 40 jours après le semis et mettent 20 à 25 jours à s'épancir. Les fruits sont des capsules composées de 3 à 5 valves coriaces ; chaque loge contient 7 à 11 graines qui portent les fibres, celles-ci sont des cellules allongées, aux parois durcies (WENT, 1969) de l'épiderme de la graine. Selon la longueur des fibres on distingue :

- a) - les cotonniers à fibre courte : 25 mm

G. herbaceum et G. arboreum

- b) - les cotonniers à fibre moyenne : de 25 à 30 mm

G. hirsutum.

- c) - les cotonniers à fibre longue : 30 mm et pouvant atteindre 6 cm chez certaines variétés de G. barbadense, cultivées en Egypte et dans le Sud-Ouest de l'Amérique (F.W. WENT, 1969).

.../...

T A B L E A U 1

Base de la classification systématique des 20 espèces de Cotonniers.

n = 26 chromosomes	A. Cotonniers cultivés et à fibres	
	du Nouveau Monde	de l'Ancien Monde
	* 1. G. hirsutin (A. centrale)	
	** 2. G. barbadense (Am. latine)	
	3. G. tenentosum (Hawaï)	
n = 15 chromosomes		4. G. arboreum (Asie, Afrique)
		5. G. herbaceum (" , ")
	B. Cotonniers sauvages et non fibreux	
	<u>I. Groupe STURTIANA</u>	<u>IV. Groupe THURBERGII</u>
	6. G. sturtii (Australie)	13. G. thurberi (A. isona et Mexique)
	7. G. robinsonii (Australie)	14. G. trilobum (Cent. et S. Mexique)
		15. G. gossypioides (Mexique)
	<u>II. Groupe ERIOXILA</u>	<u>V. Groupe ANOMALA</u>
	8. G. aridum (Mexique)	16. G. triphyllum
	9. G. armourianum et	17. G. anomalum Afrique
	10. G. harknessii (Californie)	
	<u>III. Groupe KLOTZSCHIANA</u>	<u>VI. Groupe STOCKSIANA</u>
	11. G. klotzschianum	18. G. stocksii
	11 (bis). G. " vas davidsonii	19. G. somalense
	12. G. rainondii (N. Perou)	20. G. arcsianum

- * - espèce la plus cultivée dans le monde.
 ** - comprend les variétés Egyptiennes à fibres longues.

Le Coton est d'une culture exigeante, particulièrement en chaleur et en humidité. Il est cultivé dans les pays tropicaux et subtropicaux, normalement entre le 32^e parallèle Sud et le 38^e parallèle Nord.

Cependant les Soviétiques, grâce à la création de variétés (à cycle court) précoces, peuvent cultiver le Coton dans les steppes méridionales jusqu'au 47^e parallèle.

La température minimale requise pour la germination des graines est de 15°, l'optimum se situant entre 28 et 35°, aussi, le coton se cultive-t-il généralement avec succès dans les pays dont la température moyenne annuelle se situe entre 20 et 30° (CHAMI, 1965).

Tous les types de sol peuvent convenir à la culture du Coton à condition d'être perméables. Mais le facteur limitant est l'alimentation en eau, il faut une pluviométrie annuelle minimum de 400 à 600 mm (ALLIX, 1956) sinon, on doit avoir recours à l'irrigation. Celle-ci apportant à la culture, en fonction des besoins, jusqu'à 6 000 à 7 000 m³ d'eau à l'hectare permet d'atteindre des rendements beaucoup plus élevés.

B - BREF HISTORIQUE DE LA CULTURE DU COTON DANS LE MONDE.

La culture du Coton dans le monde est très ancienne. Elle a probablement débuté en Inde où des cotonnades remontant à 3 000 ans avant J.C. ont été découvertes dans la vallée du fleuve Indus (CHAMI, 1965). D'autre part, on a trouvé en Amérique latine et au Pérou notamment, des tissus remontant à 2 500 ans avant J.C.. Toutefois, malgré l'origine très lointaine de cette culture, il semble que ce soit les Arabes qui lui aient donné son nom actuel (Coton (1) قطن) et qui l'aient propagée et vulgarisée dans le bassin méditerranéen lors des grandes conquêtes islamique (ALLIX, 1956).

Enfin, l'Europe ne connaîtra cette culture qu'au lendemain des croisades, d'abord comme objet de commerce venant d'Asie Mineure et de Syrie par l'Italie et, plus tard, comme matière première industrielle.

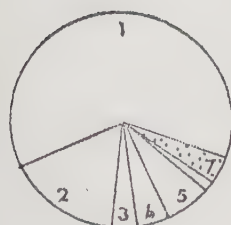
Dans le monde, le Coton occupe depuis très longtemps et de nos jours encore, la première place parmi les 700 espèces végétales susceptibles de produire des fibres (KIRBY, 1963). En outre, le Coton présente de l'intérêt pour la production d'huile (15 à 30 % du poids des graines) et de tourteaux.

(1) - LAROUSSE (L3) - ALLIX et GIBLERT (1956) - CHEVALIER et al. (1954).

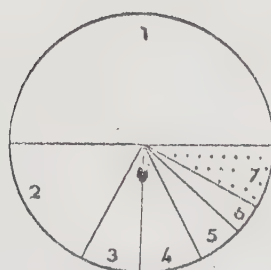
FIGURE N°1

EVOLUTION DE LA PRODUCTION MONDIALE DE COTON

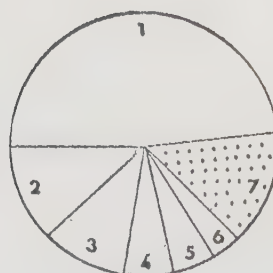
de 1909 à 1969



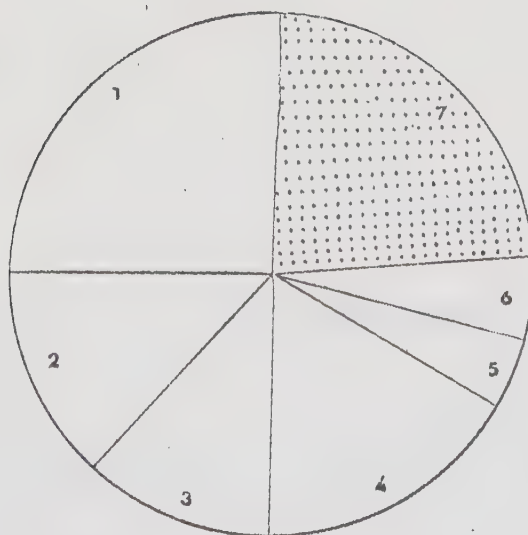
1909-1913



1931-1935



1946-1950



1960-1969

LEGENDE

1- ETATS UNIS

2- INDE & PAKISTAN

3- CHINE

4- U. R. S. S.

5- EGYPTE

6- BRESIL

7- AUTRES PAYS

Au début du XIXe siècle, le Coton ne fournissait que 4 % des tissus des pays industrialisés, mais à partir de cette date, l'industrie cotonnière a connu un développement très rapide, favorisée en particulier par la réinvention de l'égreneuse mécanique par l'américain ELI-WHITNEY. Un siècle plus tard alors que la population du monde occidental s'était multipliée par 5, le tonnage de Coton brut importé en Grande Bretagne pour y être manufacturé s'était multiplié lui par 7 000. A cette époque d'une façon générale 74 % des besoins en textiles des Américains et des Européens étaient satisfaits par les cotonnades

Au cours du XXe siècle, comme le montre la figure 1, la production mondiale de Coton a encore progressé et, à côté des Etats-Unis, d'autres pays sont devenus d'importants producteurs de Coton (U.R.S.S., Inde, Pakistan, Chine, Brésil, Egypte, etc.).

Mais malgré une progression constante de la production globale de Coton dans le monde, il s'est manifesté au cours des 20 dernières années une réduction de la consommation moyenne par habitant (tableau 2). Ce phénomène est dû essentiellement à la concurrence très sévère des fibres artificielles dont l'utilisation croît régulièrement.

TABLEAU 2

Evolution de la consommation annuelle de Coton et de fibres artificielles
en kg par habitant.

Année	1			2			
	1948	1951	1953	1958	1961	1964	1967
Tissus	3,64	4,13	4,15	3,39	3,37	3,2	3,2
Coton	3,64	4,13	4,15	3,39	3,37	3,2	3,2
Fibres artificielles				1,2	1,18	1,5	1,8
Tous les tissus				4,88	5	5,4	5,7

1. ALIX et GIBERT (1956)

2. Le livre annuel du Coton Syrien (1970).

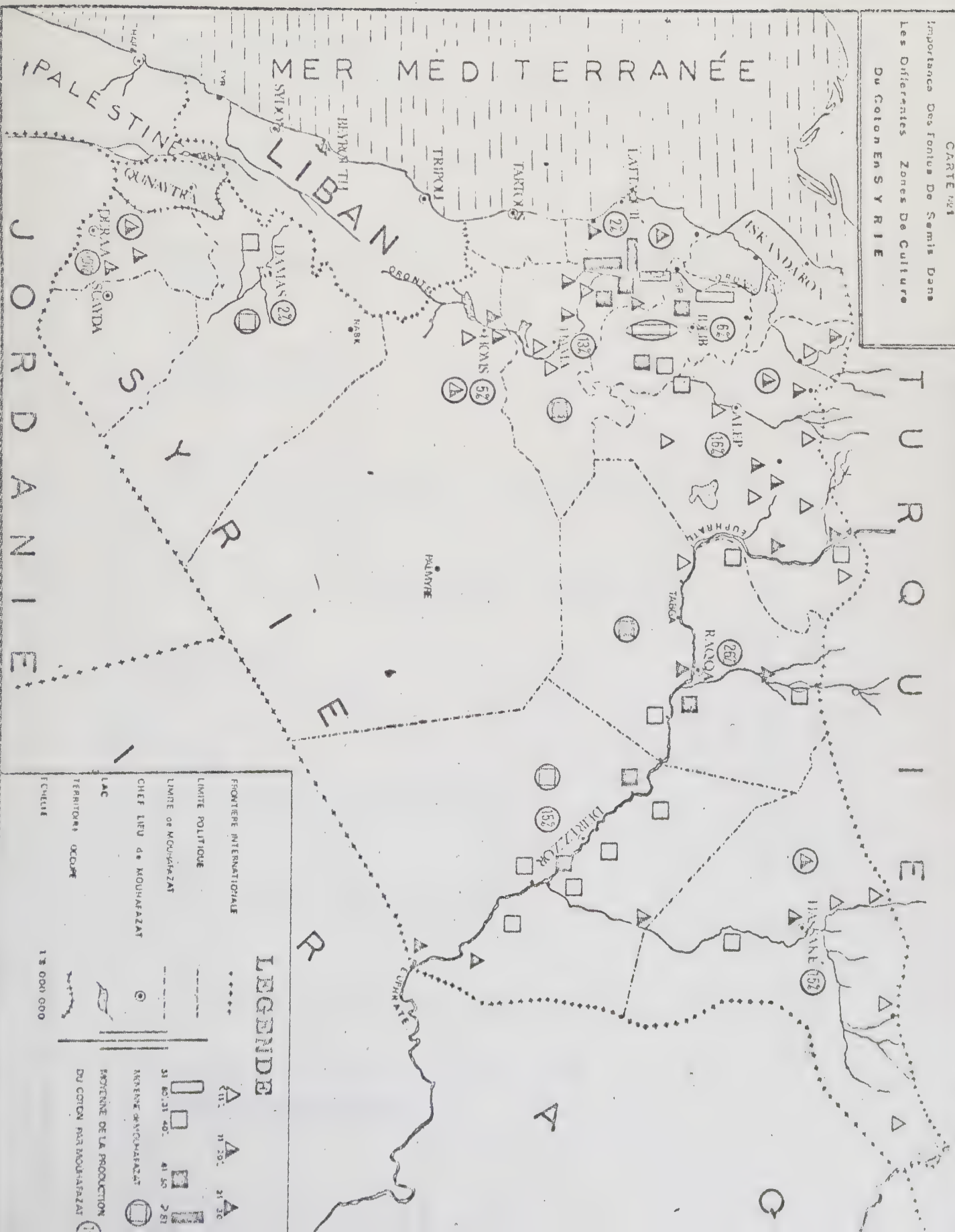
La figure 2 fournit quelques caractéristiques récentes de 1960-1969 de la production de Coton dans les principaux pays. On peut remarquer que les rendements moyens sont très variables d'un pays à l'autre. La Syrie, bien qu'ayant une production relativement faible (1,35 % de la production mondiale) obtient des rendements assez satisfaisants, très supérieurs à la moyenne mondiale et comparables à ceux des Etats-Unis.

C - LA CULTURE DU COTON EN SYRIE.

1) Historique et importance économique actuelle.

Le paysan syrien a connu la culture du Coton il y a fort longtemps, avant même les conquêtes islamiques, semble-t-il. Il est probable que des graines aient été introduites en Syrie par les caravanes commerciales venant de l'Inde et de l'Asie de l'Ouest. Selon CHAMI, 1965, la plus ancienne référence à cette culture en Syrie est due à AL ASTOUD en 915. A cette époque le Coton aurait occupé une grande partie des surfaces cultivées du Nord-Est du pays, et des rives du Khabour (voir la carte n° 1). Selon les écrits de I B N AL AWAM, en 1200, on peut penser que la culture du Coton était très développée en Syrie, peut être même plus que de nos jours, D'après la littérature arabe, l'espèce cultivée à cette époque était G. herbaceum.

CARTE N°1
 Importance Des Fontus De Samis Dans
 Les Différentes Zones De Culture
 Du Colonens Y RIE

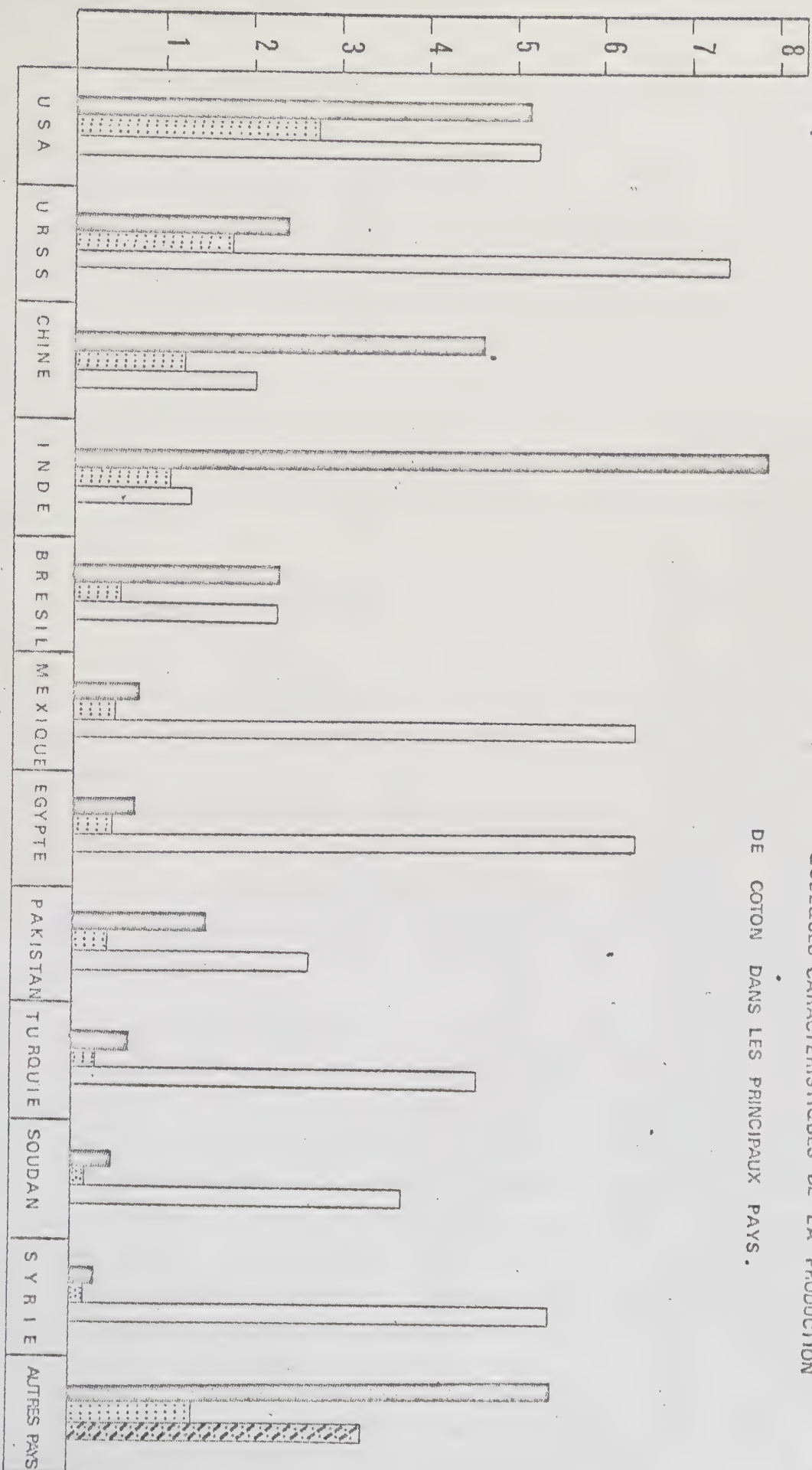


LEGENDE

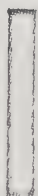
- FRONTIERE INTERNATIONALE
- LIMITE POLITIQUE
- LIMITE DE MOUHAZAT
- CHEF LIEU d MOUHAZAT
- LAC
- TERRIRES OCCUPÉES
- ÉCHELLE
- 1:500 000
- SY
- 20
- 30
- 40
- 50
- 60
- 70
- 80
- 90
- 100
- 110
- 120
- 130
- 140
- 150
- 160
- 170
- 180
- 190
- 200
- 210
- 220
- 230
- 240
- 250
- 260
- 270
- 280
- 290
- 300
- 310
- 320
- 330
- 340
- 350
- 360
- 370
- 380
- 390
- 400
- 410
- 420
- 430
- 440
- 450
- 460
- 470
- 480
- 490
- 500
- 510
- 520
- 530
- 540
- 550
- 560
- 570
- 580
- 590
- 600
- 610
- 620
- 630
- 640
- 650
- 660
- 670
- 680
- 690
- 700
- 710
- 720
- 730
- 740
- 750
- 760
- 770
- 780
- 790
- 800
- 810
- 820
- 830
- 840
- 850
- 860
- 870
- 880
- 890
- 900
- 910
- 920
- 930
- 940
- 950
- 960
- 970
- 980
- 990
- 1000

FIGURE N° 2

QUELQUES CARACTÉRISTIQUES DE LA PRODUCTION
DE COTON DANS LES PRINCIPAUX PAYS.



LEGENDE



SUPERFICIE EN 10⁶ ha.



RENDEMENT EN QUINTAUX/ha



PRODUCTION EN 10⁶ TONNES



REND.-MOY. du M^de. EN QUX./ha

Par la suite, au cours des siècles, la culture du Coton semble avoir fortement régressé. Mais depuis une vingtaine d'années la culture du Coton a connu un nouvel essor. Cette évolution est due à la création en 1952 à ALEP du "Bureau du Coton", organisme chargé d'apporter des solutions techniques aux problèmes du développement de cette culture. Il en est résulté une augmentation importante des surfaces cultivées, des tonnages et des rendements (figure 3).

Actuellement, le Coton constitue la principale culture syrienne et fournit au pays un revenu annuel de l'ordre de 400 millions de livres syriennes (100 millions de dollars). Entre 1960 et 1969, la production cotonnière syrienne était exportée à environ 86 % (86,32 % en moyenne); 13 % (12,68) étaient utilisés par les filatures et usines locales de tissage, enfin 1 % (0,3 %) servait aux usages domestiques.

2 - Quelques particularités de la culture du Coton en Syrie.

Dans la plupart des cas, le Coton est cultivé en monoculture. Jusqu'en 1969, on utilisait principalement des variétés américaines du groupe Upland (G. hirsutum), successivement "Coker 100 wilt", "Coker 100 wilt A", "Coker Carolina Queen", Mais à cause de leur sensibilité à la Verticilliose, elles sont actuellement remplacées par un cultivar local plus tolérant et aussi productif ("Alep 1").

Les semis sont réalisés dans le courant du mois d'avril, lorsque la température moyenne dans les 20 premiers centimètres du sol atteint 18° C et que les pluies qui endommagent considérablement les plantules deviennent rares.

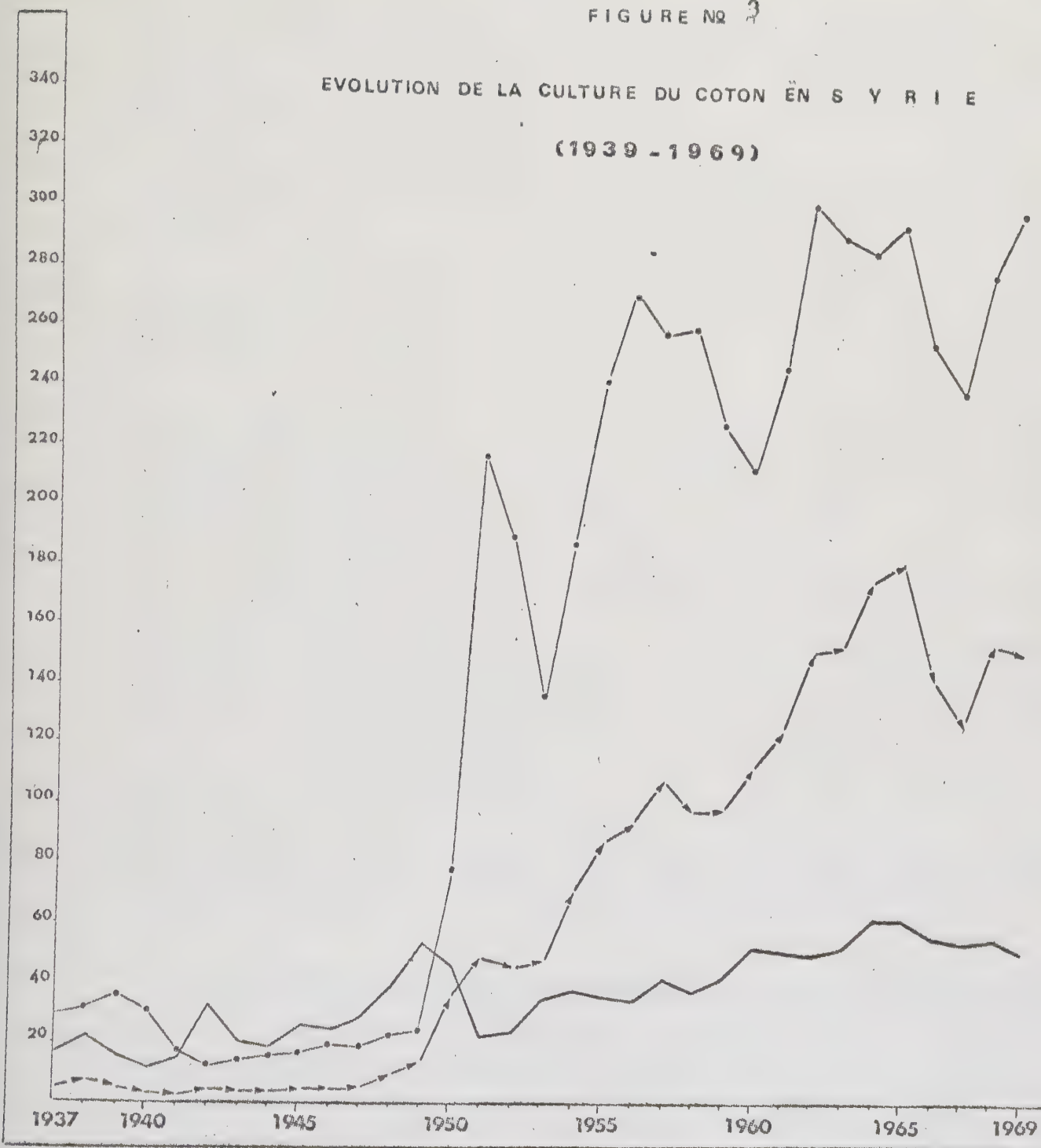
Les semis sont effectués en sols bien préparés, à l'aide de graines préalablement imbibées (12 heures au moins) ou non. Ils se font soit à la volée (méthode en voie de disparition en raison de ses inconvénients) soit en lignes dans le sillon d'une charrue araire, soit enfin sur des billons espacés de 60 cm. Dans ce dernier cas, les billons sont, si possible, orientés d'Est en Ouest de manière à réaliser le semis sur leur versant Sud. Celui-ci est fait en poquets espacés de 20 à 25 cm, comprenant chacun 10 à 15 graines. Après la levée, lorsque les risques de fontes de semis sont écartés, un éclaircissage permet de ne conserver que deux plantules par emplacement. Cette technique donne les meilleurs résultats et est actuellement la plus conseillée.

Tous ces travaux sont généralement réalisés à la main mais la mécanisation des semis tend à s'implanter depuis quelques années.

FIGURE NO 3

EVOLUTION DE LA CULTURE DU COTON EN S Y R I E

(1939 - 1969)



SUPERFICIE CULTIVEE EN 10^3 ha

LEGENDE

RENDEMENT EN 10³ kg./ha
















PRODUCTION (COTON EGRENE) EN 10^3 TONNES

Les principales régions cotonnières de Syrie sont sèches, aussi la culture est-elle obligatoirement irriguée, généralement par ruissellement. La première irrigation intervient lorsque le terrain est préparé, soit quelques jours avant, soit immédiatement après le semis.

En cours de culture, l'eau est fournie en fonction des besoins des plantes.

Parfois, le Coton est également cultivé sans irrigation dans les régions où la pluviométrie des mois de février + mars d'au moins 250 mm, permet de constituer des réserves suffisantes en eau du sol.

La culture du Coton dure 200 jours en moyenne. Et alors qu'il se trouve, selon un géographe américain "aux portes de la mort", c'est-à-dire à la limite de son aire naturelle, le Cotonnier produit ses meilleurs rendements. La cueillette se fait en deux ou trois fois au cours des mois de septembre et octobre.

Du semis à la récolte, le cotonnier passe par cinq phases successives (CHAMI, 1972) :

- 1 - la levée
- 2 - le stade plantule
- 3 - la préfloraison
- 4 - la floraison
- 5 - la maturation

Le premier et le deuxième stades sont de loin les plus sensibles aux attaques cryptogamiques (fontes de semis notamment).

3 - Les principaux problèmes phytosanitaires de la culture du Coton en Syrie.

La culture du Coton en Syrie pose de nombreux problèmes liés au sol (salinité notamment), au climat (aléas climatiques) mais surtout aux parasites animaux et végétaux (mauvaises herbes, insectes, cryptogames).

a) - Les mauvaises herbes.

Parmi le cortège de mauvaises herbes, un certain nombre retiennent l'attention en raison de leur grand pouvoir d'extension et de la difficulté de les détruire.

TABLEAU 3

Les mauvaises herbes dans le champ du Coton en Syrie
Nom latin, français et arabe (local).

Nom latin	Nom français	Nom arabe (SYRIE)
SETARIA SYRIACA		الذريق
CYNODON DACTYLON Pers.	Pied de Poule	النجيل
SORGHUM HALEPENSE Pers.		الحليان
DIGITARIA SANGUINALIS Scop.	Digitaire	الرزين
CYPERUS ROTUNDUS L.	Souchet	السعن
CONVOLVULUS ARVENSIS L.	Liseron des champs	المداة
GLYCIRRHIZA GLABRA L.	Réglisse	المسوس
PROSOPIS FALCATA		الخريشبة
DATURA STRAMONIUM L.		المانورة
AMARANTHUS RETROFLEXUS L.	Amaranthe	عزف الديك
PORTULACA OLERACEA L.	Pourpier	البقلة
ARUNDO PHRAGMITES L.	Roseau commun	الخاب
ou		
PHRAGMITES COMMUNIS Trin.		

Les moyens de lutte sont essentiellement manuels, le dosherbage chimique a été expérimenté avec succès et commence à être vulgarisé depuis quelques années.

b) - Les Insectes.

En 1965, J. LABOUCHEIX, entomologiste français de l'I.R.C.T. après une mission en Syrie, a cité dans son rapport les insectes observés sur les Cotonniers. Nous les classons d'après la chronologie de leur apparition au champ.

TA B L E A U 4

Les insectes attaquant le cotonnier en Syrie :
nom latin, français et arabe.

Nom latin	Nom français	Nom arabe (SYRIE)
1. LAPHYGMA EXIGUA	-	الدودة الخضراء
2. APHIS SPP.	Pucerons	المن
3. PRODENIA LITURA		دودة ورق القطن
4. HELIOTHIS ARMIGERA	Ver américain	دودة اللوز الامريكية
5. TRIPS TABACI		التريبيس
6. TETRANICUS TELERIUS	Araignée rouge	العنكبوت الاحمر
7. EARIAS INSULANA	Ver épineux	دودة اللوز الشوكية
8. PECTINOPHORA GOSSYPIELLA	Ver rose	دودة اللوز القرمزية
9. JASSIDES	-	نطاط القطن
10. BEMISIA		
) durant toute la saison		بق البراعم

Ajoutons en tête de cette liste Agrostis ypsilon qui n'était pas cité par l'auteur mais qui constitue un véritable danger pour les plantules dans certaines régions (Ghab et Raqqa en 1960).

Hormis l'année 1951 où le ver épineux a provoqué une véritable catastrophe, (voir figure 3), les dégâts dus aux insectes restent limités grâce à une surveillance permanente et méticuleuse des cultures. Les premiers foyers, par ce moyen, sont rapidement décollés et les attaques ne s'étendent pas à l'échelle de régions entières.

c) - Les maladies cryptogamiques.

1. La Bactériose.

Une bactériose due à Xanthomonas malvacearum se manifeste par des lésions et des nécroses sur l'appareil végétatif et sur les capsules. Cette maladie a été observée en Syrie pour la première fois en 1963 dans les terrains expérimentaux irrigués par aspersion. Elle n'a pas été observée ailleurs, et, pour l'instant elle reste beaucoup moins dangereuse que d'autres maladies cryptogamiques.

2. La Verticilliose.

Avec les fontes de semis, la Verticilliose est la maladie la plus

dangereuse. Elle s'aggrave de plus en plus à cause de la monoculture cotonnière appliquée involontairement dans le pays. Contrairement à l'opinion généralement admise, qui attribuait les dégâts à Verticillium albo-atrum, il semble que l'agent responsable soit V. dahliae que nous avons isolé à diverses reprises à partir de plantes malades. Toutes les variétés américaines de Coton qui ont été cultivées jusqu'à présent en Syrie sont sensibles à cette maladie. Récemment, grâce aux travaux menés par le Bureau du Coton, un cultivar tolérant, dénommé "Alep I" a pu être créé (CHAMI, 1972). Ce cultivar, qui a manifesté un bon comportement dans toutes les régions cotonnières du pays, doit être le seul cultivé à partir de 1973.

3. Les fontes de semis.

Jusqu'à 1960, les fontes de semis ne faisaient que des dégâts très limités, mais au cours des années, toutes les régions ont été progressivement atteintes. Dans "l'Annuel du coton syrien", publié en 1970, on considère que les fontes de semis sont devenues la plus grave maladie du Cotonnier. Selon un rapport du Département de la Protection des Végétaux (KHOURI et al., 1970), tous les terrains irrigués sont infestés à des degrés variables. Les rivages de l'Oronte sont la région la plus touchée avec 90 % des semis détruits. Cependant, dans cette zone on remarque que les sols calcaires ou semi-calcaires échappent à la maladie. Sur l'ensemble du pays les "Mouhafazats" (GOUVERNORAT) les plus atteints sont : Hama (région de Ghab) et Idli' (région de l'Oronte) avec plus de 60 % des semis détruits, puis Raqqa (41 %) et Deir Ez Zoor (36 %). Ces régions (voir carte n° 1) se caractérisent par une forte humidité des sols. Ainsi le préjudice économique dû aux fontes de semis du cotonnier est très important. Les graines germées ou non peuvent être détruites avant même la levée (fontes de pré-émergence) ou bien les plantules sont attaquées après la levée (fontes de post-émergence). Des attaques plus tardives, jusqu'à un mois après la levée, provoquent des chancres nécrotiques sur la tige au niveau et au-dessus du collet (sore Shin).

Dans les deux premiers cas et parfois le troisième, l'attaque est mortelle. L'agriculteur est obligé d'effectuer un nouveau semis, sur la totalité ou une partie de son champ, ce qui a pour conséquence de retarder d'autant la culture qui risque, à l'automne, de subir une invasion de "vers des capsules", dont les attaques sont fréquentes en fin de saison. En outre, les pluies précoces d'automne risquent de compromettre la récolte.

Afin de limiter l'incidence des fontes de semis, l'agriculteur est amené

à augmenter les quantités de semences préconisées par les services officiels et cette mesure est souvent insuffisante. KHOURI et al. (1970) estiment que, si une bonne protection des semis était obtenue, le pays pourrait économiser la moitié des graines actuellement utilisées et dont le prix est d'environ 4 millions de livres syriennes. En ajoutant à cette somme les frais de main-d'oeuvre (resemis, démarriage) et les pertes de récolte (en quantité et qualité) on arrive à une estimation minimum de dégâts annuels dûs aux fontes de semis de 9 millions de livres syriennes répartis ainsi :

- 4 millions de semences
- 1 million de main-d'oeuvre
- 4 millions de perte de récolte (1 %)

Les agents pathogènes responsables de ces fontes de semis peuvent être très nombreux. En Syrie, les travaux du Département de la Protection des Végétaux à Alep ont mis en cause Rhizoctonia solani, Fusarium spp., Alternaria sp., Cephalosporium sp., Chaetomium sp., Rhizopus sp., Aspergillus sp., Penicillium sp., Papullospora sp., certains de ces champignons sont des parasites bien connus mais d'autres sont plutôt des saprophytes dont l'action parasitaire doit être négligeable ou nulle. Par contre, les données actuelles, de sources syriennes, ne mettent en cause ni Pythium, ni Verticillium sp. dont le rôle pathogène a été mis en évidence dans d'autres pays.

D'après les isollements réalisés, il semble que les champignons les plus fréquents et les plus pathogènes soient Fusarium spp. mais surtout R. solani.

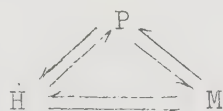
D - ORIENTATION GENERALE DU TRAVAIL.

Il apparaît donc que les fontes de semis constituent un problème très important pour la culture du Coton en Syrie. La plupart des agents pathogènes qui peuvent être mis en cause sont des habitants normaux du sol, et parmi eux R. solani, semble le plus fréquent. Toutefois un certain nombre d'imprécisions demeurent et nous tenterons d'apporter quelques éléments permettant de mieux connaître la nature des agents responsables et leur importance respective dans les conditions de la Syrie.

Sous un angle appliqué, les méthodes de lutte préconisées jusqu'à ce jour dans le monde entier font appel à des produits pesticides appliqués en traitement de semences ou de sol et destinés à tuer ou inhiber temporairement les parasites.

Du point de vue économique, seul le traitement des graines peut être envisagé dans la pratique. Cependant, compte tenu du fait, d'une part, que les principaux parasites sont localisés dans le sol et non sur la semence, d'autre part, du mode de germination épigée des graines, ce type de traitement se révèle dans les conditions de la pratique assez peu efficace. Il semble donc qu'il faille, au lieu de rechercher une action directe et ponctuelle sur le parasite, aborder le problème des fontes de semis sous un angle écologique plus général, ce qui pourrait permettre d'avoir d'autres possibilités d'intervention.

En effet, la manifestation d'une maladie est le résultat d'interactions complexes, entre le parasite (P), la plante-hôte (H), mais aussi le Milieu (M) dont l'équilibre détermine la gravité des attaques.



Dans le cas présent, nous venons de voir que des possibilités d'action directe sur le parasite par les moyens traditionnels (fongicides) sont limitées. De même, une action à court terme sur la plante-hôte (résistance variétale) paraît peu probable. Toutefois, nous tenterons de définir les stades de sensibilité des plantes aux agents de fontes de semis (R. solani notamment).

Enfin, l'étude des facteurs du milieu, particulièrement du milieu-sol nous paraît primordiale. Une meilleure connaissance des relations entre le parasite et les facteurs biotiques du milieu-sol peut amener à concevoir des méthodes de lutte d'ordre biologique. En effet, il peut être intéressant de chercher à modifier l'équilibre des micropopulations du sol dans un sens défavorable au parasite. L'introduction directe dans le sol de microorganismes antagonistes ou compétiteurs, est souvent vouée à l'échec car, placés dans un milieu qui n'est pas le leur, en l'absence d'espaces libres, ces organismes ne peuvent s'installer et sont rapidement éliminés. Par contre, la stimulation sélective de fractions particulières de la microflore déjà en place semble pouvoir être obtenue en modifiant certaines des conditions du sol.

Depuis les travaux de SANFORD (1926) (in GARRETT (1965)) qui obtenait une réduction de la Gale commune de la Pomme de terre par enfouissement d'engrais verts, différents auteurs ont étudié les possibilités de lutte contre des parasites telluriques en modifiant les propriétés biologiques du sol, par différents

moyens. On peut citer en particulier les travaux de BAKER et NASH (1965) et de MAURER et BAKER (1965) qui ont étudié l'effet de modifications du rapport C/N du sol par apport de cellulose, glucose, azote minéral. De même PAPAIVIZAS et al. (1962, 1968), DAVEY et PAPAIVIZAS (1960) ont étudié le comportement de champignons telluriques (Fusarium solani et Rhizoctonia solani) après incorporation au sol de diverses substances organiques.

D'autres auteurs comme LLOYD et al. (1965), MESSIAEN (1965a), SNEH (1971) cherchent à mettre en évidence les organismes responsables (surtout des actinomycètes) de la lyse mycélienne dans le sol et recherchent leur stimulation par apport au sol de chitine. Enfin, après une étude des relations entre la microflore et certains parasites telluriques, LEMAIRE et JOUAN (1966), (1970) obtiennent successivement des résultats intéressants dans la lutte contre Ophiobolus graminis (agent du Piétin-échaudage des céréales) au moyen de divers substrats de nature protéinique, puis selon certaines particularités d'application, des réductions de l'attaque de R. solani.

En nous basant sur l'ensemble de ces données, nous tenterons d'une part de préciser les conditions d'incorporation au sol de substrats nutritifs pour obtenir une lutte efficace contre les fontes de semis du Coton dues à R. solani. D'autre part, nous chercherons à mieux connaître le mode d'action de ces substrats sur les micropopulations du sol et sur le parasite.

Dans les études qui viennent d'être relatées, les auteurs cherchent à stimuler certaines fractions de la microflore du sol susceptibles de réduire par un mécanisme quelconque (compétition, antagonisme, lyse, etc.) l'activité d'un parasite.

Mais à côté de cette microflore, le sol contient également une microfaune dont certains éléments peuvent être très actifs et présentent de l'intérêt dans une optique de lutte biologique. Ainsi, certaines espèces de nématodes non phytoparasites sont surtout des mycéliophages. Dans la mesure où ces nématodes consomment préférentiellement le mycélium de champignons phytopathogènes, leur utilisation peut être envisagée pour protéger les plantes. Peu de recherches ont été effectuées dans ce domaine et seuls quelques exemples sont connus. Citons les travaux de RIOADES et al. (1959) qui ont pu diminuer sensiblement l'attaque de Pythium arrhenamanes sur Maïs, de ROY A.K. (1973) sur R. solani et Colletotrichum coccodes sur tomate.

Certains travaux ont montré (MANKAU, 1963 ; PILLAI et al., 1967) que

des cultures de R. solani permettaient d'élever le nématode Aphelenchus avenae, avec de bons taux de multiplication. Nous avons repris ce type d'étude et tenté d'utiliser A. avenae pour lutter contre R. solani. D'autre part, nous avons cherché à améliorer nos connaissances actuelles sur la biologie de ce nématode sur les conditions d'élevage et sur les possibilités de conservation. Ces données sont en effet indispensables pour mettre en application une méthode de lutte basée sur l'utilisation de A. avenae.

Ainsi après avoir décrit brièvement le matériel et les méthodes générales utilisées au cours de notre travail, nous fournirons quelques précisions sur les agents responsables des fontes de semis du Coton en Syrie, puis nous aborderons les études relatives au déplacement des équilibres microbiens du sol ; ensuite nous exposerons les essais concernant A. avenae et ses possibilités d'utilisation en phytopathologie ; enfin en discutant les résultats obtenus nous tenterons de montrer que des voies nouvelles s'ouvrent en phytopathologie, et que dans le cas des fontes de semis du cotonnier dues à R. solani, celles que nous avons étudiées sont susceptibles d'aboutir à des applications pratiques.

- C H A P I T R E II -

MATERIEL ET TECHNIQUES.

A - LA PLANTE-HOTE.

1) Tout au long de notre étude nous avons utilisé les plantes-hôtes les plus cultivées en Syrie, c'est-à-dire deux variétés de Coton appartenant à l'espèce G. hirsutum : "Coker carolina queen" puis "Alep I" qui sont toutes les deux sensibles de façon identique aux fontes de semis dues à R. solani.

2) Pour les essais réalisés en tubes, les graines de coton, avant semis, sont traitées de la manière suivante :

délintage par trempage et agitation pendant 3 à 5 mn dans de l'acide sulfurique concentré ($d = 1,83$).

rinçage à l'eau courante pendant 10 mn

élimination des graines immatures (blanches) et abimées, etc.

désinfection par trempage pendant 2 mn dans une solution alcoolique de bichlorure de mercure à 2 ‰

rinçage à l'alcool éthylique à 90 %

rinçages répétés (3 à 4 fois à l'eau stérile).

3) - Des tubes à essais, de 25/250 mm sont remplis au 1/3 de perlite imprégnée de 15 ml de solution de Blanc (Cf. composition en annexe), et autoclavés 20 mn à 120° C. Les graines de Coton sont disposées aseptiquement dans les tubes (à raison de 2 graines par tube), pointe en bas et légèrement enfoncées dans la perlite. Après germination les plantules peuvent être inoculées par les parasites désirés.

4) - Pour les essais en terre (en pots ou terrines) on se contente généralement de réaliser le délintage des graines par l'acide sulfurique suivi de rinçages à l'eau du robinet. Dans ce type d'essai, le choix de la terre a beaucoup d'importance car celle-ci peut être initialement infestée par divers organismes (Fusarium notamment) ce qui peut fausser ou compromettre les essais ultérieurs. Des tests préliminaires ont donc été nécessaires pour retenir une terre franche aussi "saine" que possible.

Par la suite, cette terre franche est additionnée de 1/3 de sable de Loire, infestée ou non suivant les essais, par une culture du champignon à étudier, répartie en pots (de 12 cm de diamètre) ou en terrines (de 20 cm de côté). Les semis se font à raison de 5 graines par pot ou 20, 25 graines par terrine. Chaque traitement est répété 4 à 10 fois. Les graines sont semées, une à une, à la pince, pointe en bas et enfoncées de 1 à 2 cm dans la terre. L'irrigation est toujours effectuée par capillarité en disposant pots ou terrines dans des bacs où un certain niveau d'eau est maintenu aussi constant que possible.

5) Sauf essais particuliers, les cultures sont réalisées à $25^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ environ. Les essais en tubes durent 15 à 21 jours, les essais en terre 30 à 45 jours environ. Pendant cette période, diverses observations sont effectuées sur la levée et la taille des plantules, sur les attaques parasitaires, etc.. En fin d'essai, les plantules restantes sont récoltées soigneusement puis réparties en classes selon l'importance des symptômes maladiques qu'elles présentent. Ces plantules sont généralement réparties en 6 catégories (planche n° 1) :

- 0 : pas d'attaque, racines, collet, tige, indemnes de couleur blanchâtre à jaune.
- 1 : attaque très légère : couleur légèrement brune des racines ou du collet.
- 2 : attaque moyenne : nécroses et chancres sur les racines, collet et tiges mais la plantule de taille normale n'a pas marqué d'arrêt de croissance.

- 3 : forte attaque : nécroses et chancres très graves, plantule naine mais pas morte.
- 4 : très forte attaque conduisant à la mort de la plantule après la levée (fonte de post-émergence).
- 5 : plantules détruites avant la levée (fonte de pré-émergence).
- (la faculté germinative des graines utilisées est pratiquement de 100 %).

Si a,b,c,d,e,f, sont les effectifs respectifs de chaque catégorie et N le nombre de plantule, une intensité moyenne 1 de la maladie est calculée de la façon suivante :

$$1 = \frac{(a \times 0) + (b \times 1) + (c \times 2) + (d \times 3) + (e \times 4) + (f \times 5)}{5 \times N} \times 100$$

1 est une note pouvant aller de 0 (toutes les plantules indemnes) à 100 (toutes les plantules mortes avant la levée).

Pour les essais en tubes, qui font l'objet de notations répétées tous les 3 jours et pour lesquels est appréciée la progression des attaques, le même principe de notation est retenu mais pour avoir plus de précision, on augmente le nombre de classes qui est de 9.

6) . Pour les essais en terre après arrachage des plantules, et homogénéisation des répétitions d'un même traitement, un deuxième sensis est généralement effectué pour apprécier l'arrière-effet des traitements.

B - LES AGENTS PHYTOPATHOGENES.

1 - L'isolement des parasites.

L'isolement des agents responsables des fontes de semis du cotonnier a été effectué soit à partir de plantules malades, soit à partir de sols infestés.

- Grâce au Bureau du Coton à Alep, nous avons pu recevoir (en 1971 et 1972) des plantules malades de coton, à partir desquelles des isollements ont été réalisés sur milieu à l'extrait de malt gélosé à 2 %. Après une semaine d'incubation à la température ambiante, les colonies fongiques qui se sont développées sont repiquées et conservées en mycothèque.

- La recherche des parasites notamment R. solani, dans des échantillons de sols infestés, provenant en partie de Syrie et en partie de nos essais, a été effectuée selon trois techniques différentes :

Planche n° 1

- Symptômes de R. solani sur plantules de Coton (classes retenues pour la notation de l'intensité de la maladie).

- S : plantules saines : classe 0
- 1 : légère coloration du collet : classe 1
- 2 : nécroses moyennes du collet et des racines : classe 2
- 3 : importantes nécroses du collet et des racines : classe 3
- (*)
- 5 : plantules détruites avant la levée : fontes de préémergence : classe 5
- (*) : la classe 4, plantules détruites après la levée (fonte de post-émergence) n'est pas représentée.



a) - Milieu sélectif.

La première technique a consisté à utiliser un milieu sélectif préconisé par KO W.H. et al., 1971 qui favorise R. solani et inhibe le reste de la microflore :

K_2HPO_4	1 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,5 g
KCL	0,5 g
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	10 mg
$NaNO_2$	0,2 g
Acide gallique	0,4 g
*	
Dexon	90 mg
Chloramphenicol	50 mg
Sulfate de Streptomycine	50 mg
Gélose	20 g
Eau distillée q.s.p.	1 000 ml

* Sodium p- (diméthylamino) benzenediazosulfonate.

Les antibiotiques sont incorporés après autoclavage en milieu en surfusion. Après répartition en boîtes de Pétri et solidification, ce milieu estensemencé au moyen de 10 particules de terre par boîte. Les colonies fongiques sont observées et repiquées dès qu'elles apparaissent.

b) - Techniques des appâts.

PAYEN (1965) a fait une mise au point sur les applications de la méthode des appâts en phytopathologie. Elle consiste à disposer dans le sol un piège sélectif (appât) inerte ou vivant pour le champignon à rechercher.

Dans notre cas, nous avons choisi comme appâts des jeunes plantules de Coton qui permettent d'isoler du sol entre autres deux agents de fontes de semis Pythium sp. et R. solani.

Des graines de Coton désinfectées sont mises à germer in vitro à 30° C. Au bout de 5 à 7 jours, lorsque la racine a atteint 3 à 4 cm, les jeunes plan-

tules (après en avoir retiré les téguments des cotylédons) sont placées dans un échantillon convenablement humidifié de la terre à tester. Après un certain temps d'incubation (24 à 48 heures pour Pythium sp. et R. solani) (jusqu'à une semaine pour d'autres parasites à croissance moins rapide), les plantules sont récupérées, lavées à l'eau courante puis à l'eau stérile. Enfin, des isollements classiques à partir de ces plantules permettent de mettre en évidence les parasites recherchés.

c) - La technique de la lame-piège.

Cette technique consiste à faire pousser le champignon (R. solani) entre lame et lamelle de manière à pouvoir l'observer directement. Un milieu gélosé est coulé en boîte de Pétri. Pendant qu'il est en surfusion on y place une lame porte-objet stérile (figure 4) puis sur celle-ci 2 ou 3 lamelles également stériles. Après solidification, une fine pellicule de gélose d'environ 10 μ d'épaisseur est emprisonnée entre lame et lamelles. La terre à tester, convenablement humidifiée, est répartie dans la boîte de Pétri, au-dessus de la gélose. On peut également enlever lame et lamelles de la gélose et les enfoncer dans l'échantillon de terre. Quel que soit le procédé choisi, les lames sont récupérées après 48 heures d'incubation, nettoyées et observées directement au microscope pour détecter la présence de mycélium de R. solani.

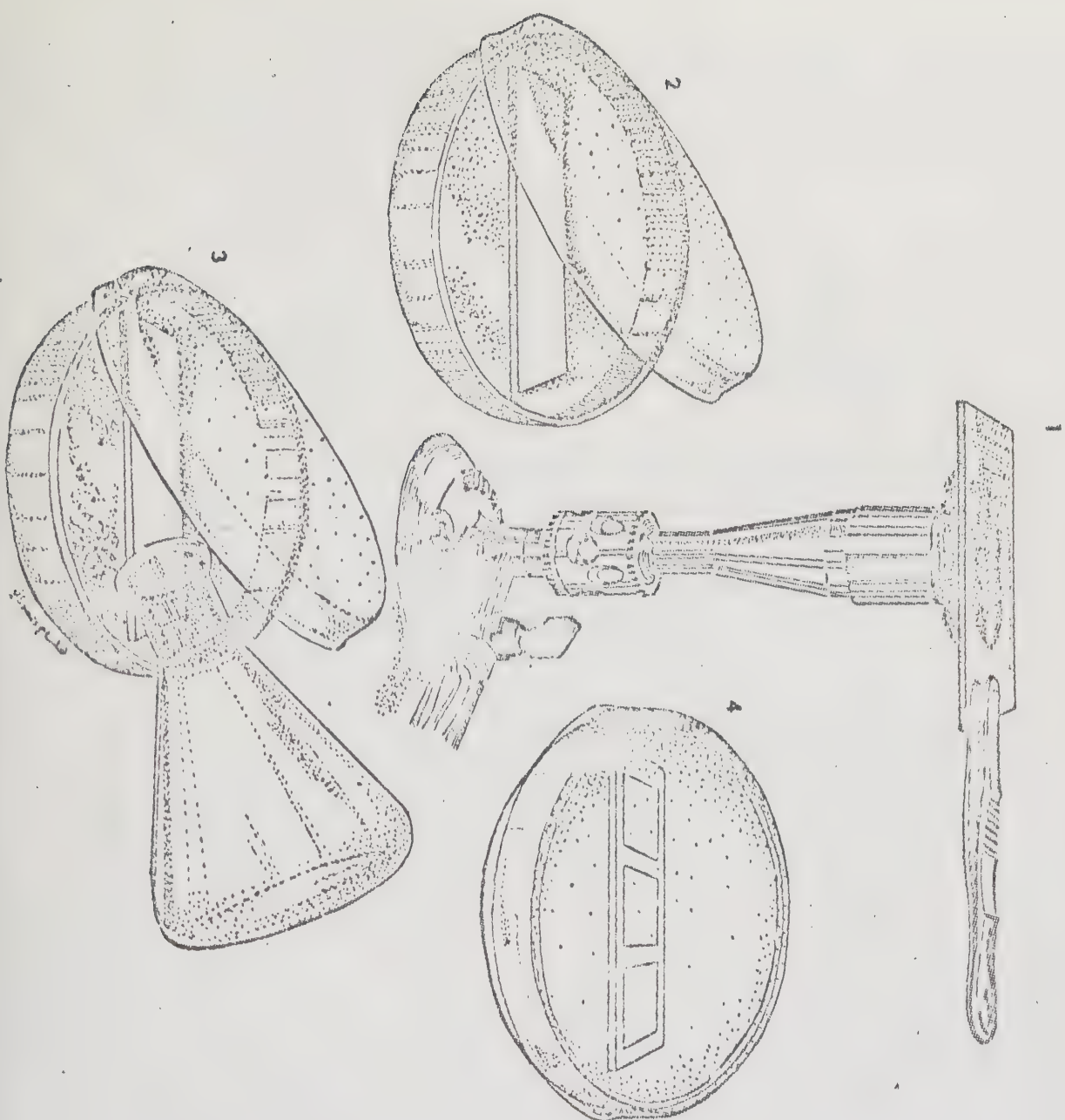
Le milieu gélosé utilisé dans cette technique peut être à base de Malt (20 g/l) ou le milieu sélectif (Cf. p. 22) mais il est plus intéressant d'utiliser le milieu suivant :

$(NO_3)_2 Ca$	1 g	}	solution de KNOP
$NO_3 K$	0,25 g		
Mg SO_4	0,25 g		
K H_2PO_4	0,25 g		
Fe Cl_3	0,002 g		
Extrait de malt	5 g		
Gélose	20 g		
Eau distillée q.s.p.	1 000 ml		

Sur ce milieu R. solani forme en abondance des cellules en tonnelet très caractéristiques, ce qui facilite grandement sa détection.

Fig. No 4

Technique de préparation des lames - pièges



LEGENDE

- 1- Desinfection des lames porte - objet à l'alcool puis à la flamme.
- 2- Disposition des lames au fond des boîtes de Petri.
- 3- Repartition du milieu gélosé en surfusion à raison de 20 ml par boîte.
- 4- Disposition de 2 ou 3 lames à prédisposition désinfectées, sur chaque lame.

Lorsque l'observation a révélé la présence du champignon, celui-ci peut être isolé en déposant directement les lames (préalablement nettoyées et désinfectées avec précaution) sur milieu gélosé (planche n° 2).

2 - La préparation de l'inoculum.

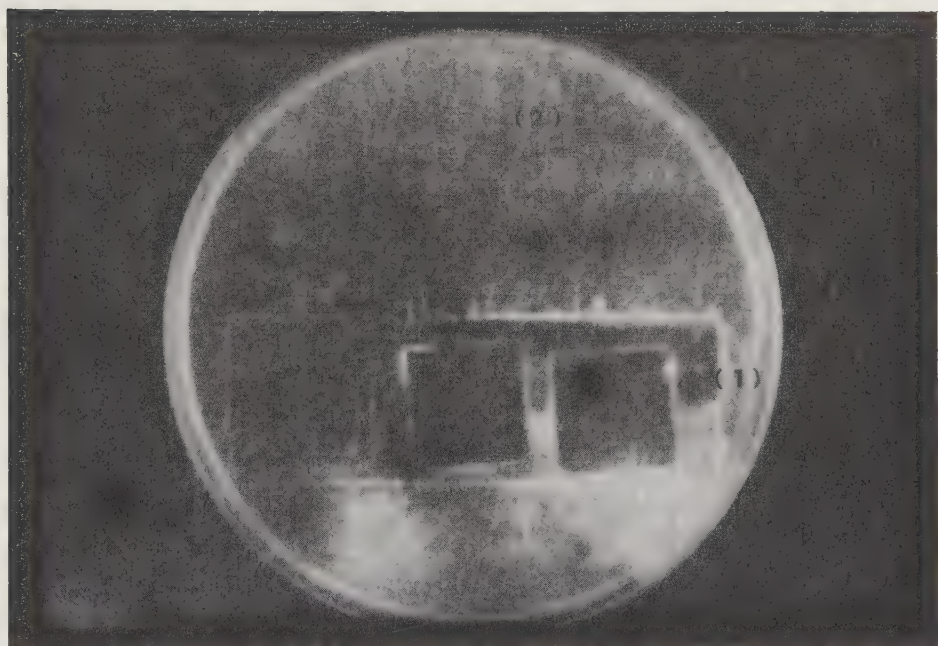
Pour les essais in vitro ou en tubes, **l'inoculum** est constitué par de .
explantats calibrés de 4 mm de diamètre, prélevés à la périphérie de colonies
fongiques poussant en boîtes de Pétri sur milieu gélosé à l'extrait de malt.

Pour l'infestation artificielle de terres, le champignon est cultivé
en boîtes de Roux sur de la Vermiculite (200 ml/boîte) imbibé d'extrait de malt
(150 ml/boîte). Lorsque la vermiculite est abondamment colonisée (en 3 ou 4 se-
maines pour R. solani) elle est mélangée à la terre à infester dans les propor-
tions de 1 volume pour 30 volumes.

Planche n° 2

Isolement du R. solani à partir du sol par la technique des lames pièges.

- 1 - Lame piège ayant séjourné 3 jours dans un sol infesté puis déposée sur un milieu nutritif en boîte de Pétri.
- 2 - Colonie de R. solani développée à partir de la lame.



- CHAPITRE III -

LES AGENTS PHYTOPATHOGENES RESPONSABLES DE FONTES DE SEMIS DU COTON.

A - RESULTATS DES ISOLEMENTS.

1 - A partir de plantules.

Les isolements réalisés à partir de plantules malades en provenance de diverses régions de Syrie ont permis de mettre en évidence les organismes suivants :

Rhizoctonia solani souche (S)
Fusarium oxysporum
Fusarium sp.
Alternaria sp.
Stemphylium sp.
Helminthosporium sativum
Aspergillus niger
Rhizopus nigricans
Penicillium sp.
 Champignon indéterminé
 Bactérie indéterminée

Cette liste se rapproche de celle fournie par KHOURI et al. (1970) et on y remarque l'absence de Pythium sp. et de Verticillium sp.. Certains de ces champignons ont un rôle pathogène certain (R. solani), d'autres sont généralement de simples saprophytes (Aspergillus, Rhizopus, Penicillium), mais leur rôle pathogène éventuel est à estimer.

2 - A partir de semences.

Au cours des essais et malgré une désinfection superficielle, deux champignons (dont le pouvoir pathogène est à vérifier ont été isolés à partir de graines de Coton :

- Cephalothecium roseum
 - Geotrichum albidum

3 - A partir de tige de coton atteintes de Verticilliose.

Des isolements ont été réalisés à partir de tiges de Coton présentant

.../...

des symptômes de Verticilliose provenant de onze régions différentes de Syrie. Pour 550 isollements au total, les champignons suivant ont été isolés :

- <u>Verticillium dahliae</u>	109 fois
- <u>Fusarium oxysporum</u>	49 fois
- <u>Cephalothecium roseum</u>	14 fois
- <u>Stemphylium</u> sp.	2 fois
- <u>Aspergillus</u> sp.	1 fois
- <u>Cladosporium</u>	1 fois
- divers indéterminés	38 fois

Dans tous les cas, nous avons isolé V. dahliae(*), alors qu'en Syrie la Verticilliose était jusqu'à présent attribué à V. albo-atrum. Outre V. dahliae, ces isollements révèlent la présence de champignons qui peuvent intervenir dans les fontes de semis : F. oxysporum, Cephalothecium roseum, Stemphylium sp.

4 - A partir d'échantillons de sol.

Un prélèvement de sol a été effectué dans deux terrains situés près d'Alep et Homs, cultivés en Coton présentant d'importantes fontes de semis. L'utilisation du milieu sélectif de KO.W.H. et al. (1971) a permis d'isoler R. solani, souche (A) de sol dans l'échantillon d'Alep. Par la méthode des appâts (plantules de coton prégermées), il a été possible de détecter avec une très grande fréquence, dans les 2 échantillons de terre, Pythium sp. et, sur quelques appâts, Stemphylium sp. et Helminthosporium sp.

B - QUELQUES CARACTERISTIQUES DES CHAMPIGNONS ISOLÉS.

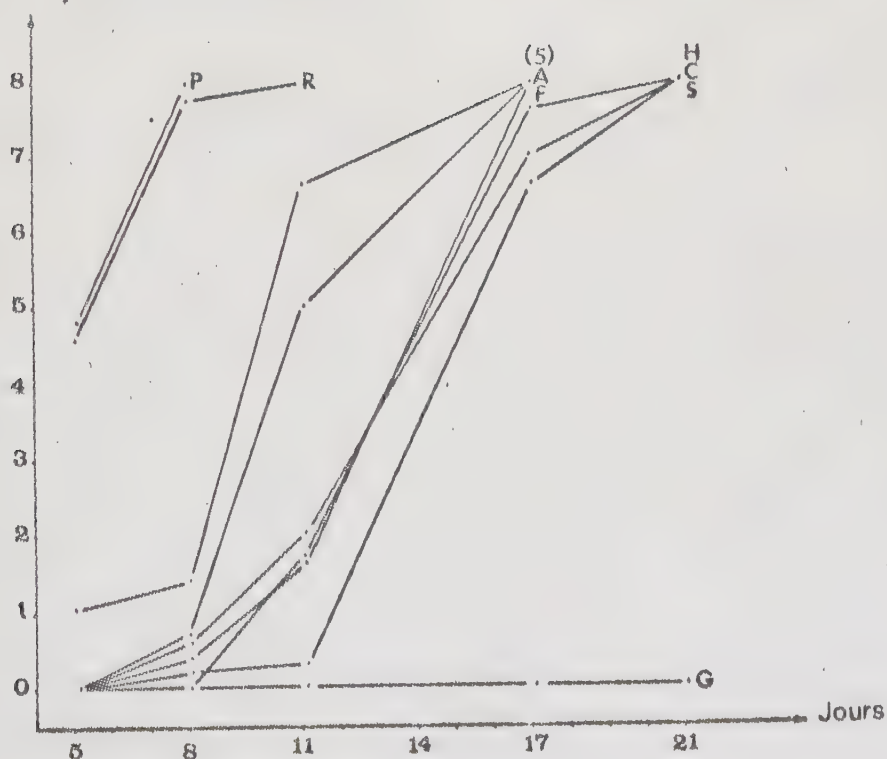
Ces divers isollements nous amènent à constituer une liste provisoire d'agents susceptibles de provoquer des fontes de semis, liste qui est assez longue ; on retiendra principalement R. solani, F. oxysporum, Pythium sp., Alternaria sp., C. roseum, Stemphylium sp., Helminthosporium sp., G. albidum.

Pour avoir une idée de leur importance relative dans les conditions de la pratique, nous avons tenté de comparer leurs exigences thermiques (croissance et pouvoir pathogène) en ne prenant en considération que les températures supérieures à 15° C qui correspond au zéro de végétation du Coton.

(*) - Détermination effectuée par M. VIGOUROUX (Station de Pathologie de Montfavet) que nous remercions.

FIG5 Appréciation du pouvoir pathogène et virulence comparée, à 25°C, de divers champignons isolés de sols, de plantules et de graines en provenance de SYRIE.

Intensité de la maladie (note de 0 à 8)



Légende : P Pythium sp.

R R. solani

A Alternaria sp.

F Fusarium oxysporum

G Geotrichum albidum

H Helminthosporium sativum

C Cephalothecium roseum

S Stemphylium sp.

(S) Non déterminé

Figure 5

P : <u>Pythium</u> sp.	H : <u>Helminthosporium sativum</u>
R : <u>R. solani</u>	C : <u>Cephalothecium roseum</u>
A : <u>Alternaria</u> sp.	S : <u>Stemphylium</u> sp.
F : <u>Fusarium oxysporum</u>	(5) : non déterminé
G : <u>Geotrichum albidum</u>	

1 - Action de la température sur la croissance des champignons isolés.

Des explantats de 4 mm de diamètre sont prélevés à la périphérie des colonies fongiques et déposés, mycélium contre gélose, à la partie supérieure des tubes inclinés (de 22 x 250 mm) contenant de l'extrait de malt gélosé. 5 tubes de chaque champignon sont placés aux températures de 15° C, 20° C, 25° C, 30° C et 35° C. Des mesures journalières de la croissance mycélienne sont effectuées, les données recueillies au bout de 4 jours permettent de tracer les graphiques 1 et 2 (figure 5).

Les souches testées ont toutes un optimum thermique situé entre 20° C et 30° C, ce qui correspond à la température du sol souhaitée au moment des semis de Coton. Ce critère ne permet pas d'établir le rôle respectif de ces divers agents : toutefois, il faut souligner la croissance beaucoup plus rapide de Pythium sp. et des deux souches de R. solani, ce qui laisse supposer des possibilités de progression très rapide quand les conditions sont favorables.

2 - Action de la température sur la virulence des champignons isolés.

Pour apprécier le pouvoir pathogène et la virulence des souches de champignons isolés, des graines de Coton ont été semées aseptiquement en tubes de perlite (Cf. technique 3 page 19). Une semaine après le semis, chaque tube contenant deux plantules est inoculé par un explantat calibré du champignon. Pour chaque champignon 5 tubes sont placés à 15° C, 20° C, 25° C, 30° C et 35° C, en présence de 16 heures d'éclairage par jour.

Dans ces essais les basses températures ont été volontairement négligées car le Coton ne germe pas en-dessous de 15° C.

L'évolution des attaques est notée tous les 3 jours selon une échelle allant de 0 (plantule indemne) à 8 (plantules mortes). Les notations réalisées permettent de tracer la figure 6 qui met en comparaison l'évolution des attaques de ces champignons à 25° C.

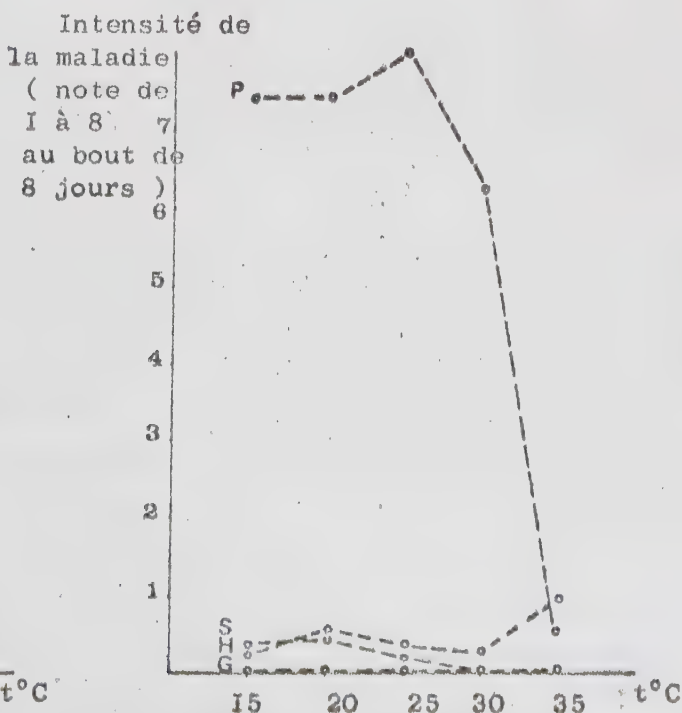
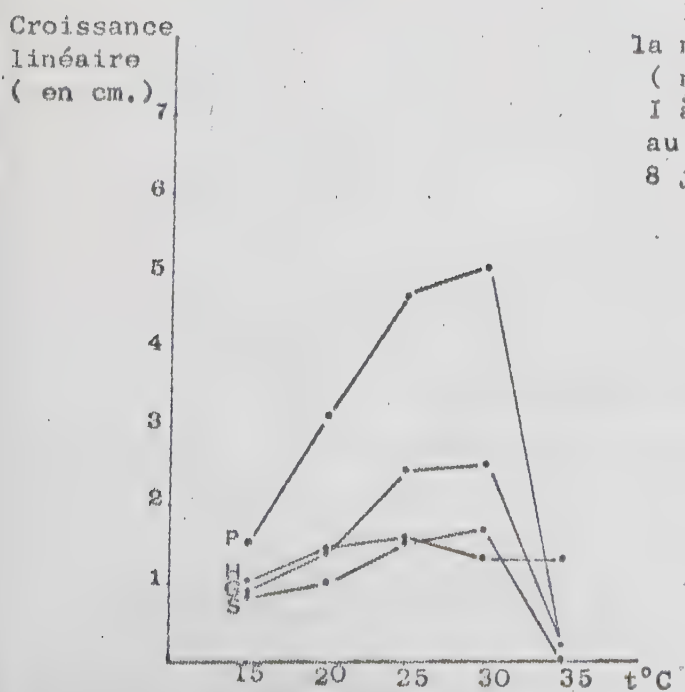
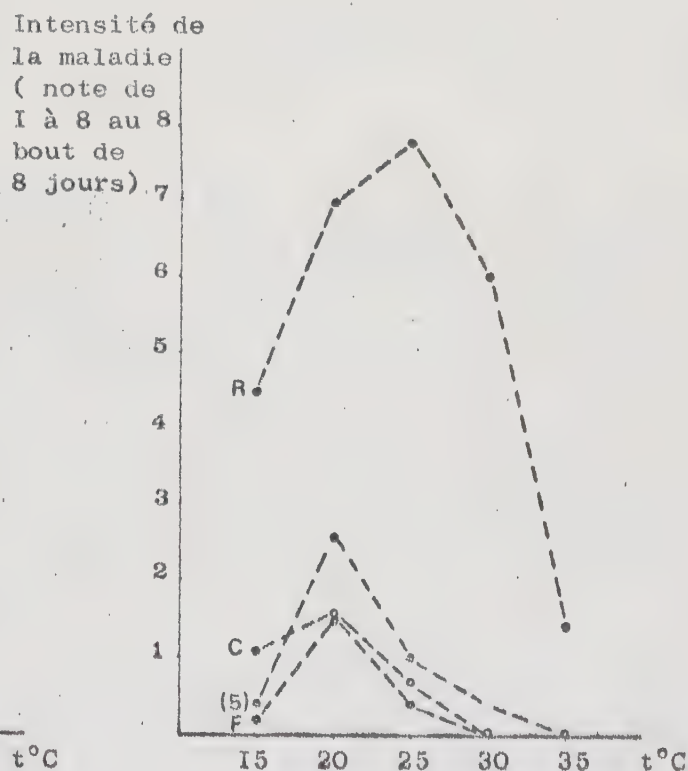
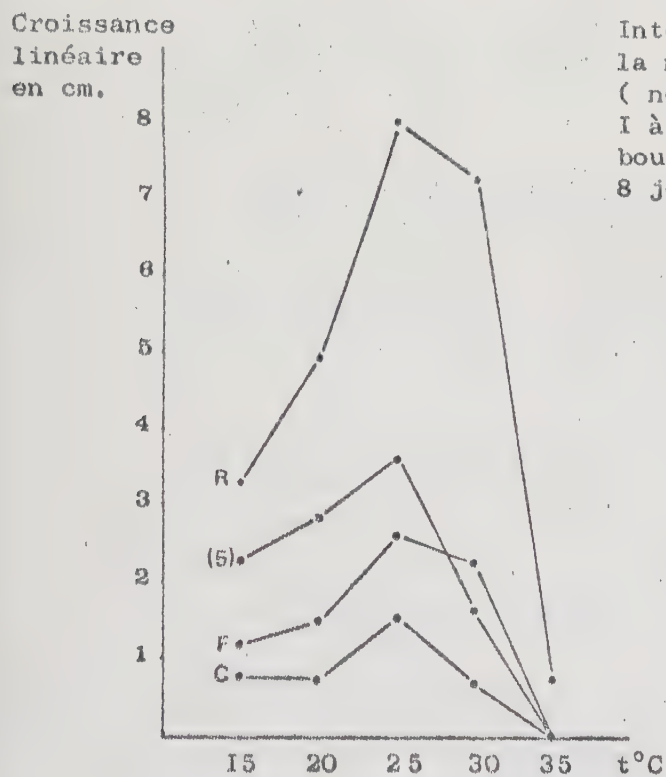
Les graphiques 3 et 4 (figure 6) qui permettent de comparer le degré de la virulence des champignons selon des températures au bout de 5 jours d'inoculation.

A l'examen de ces graphiques, il apparaît que, mis à part Geotrichum albidum, tous les champignons testés sont pathogènes pour les plantules de Coton puisqu'ils peuvent les détruire. L'optimum pour toutes les espèces se situe

Fig. 6 - Action de la température sur la croissance in vitro (graphiques 1 et 2) et sur la virulence à l'égard de plantules de Coton (3 et 4) , de diverses espèces de champignons .

(Ces graphiques représentent la croissance de champignons :

- après 2 jours de culture pour le Pythium sp.
- après 4 jours de culture pour les autres espèces .



entre 20 et 30° C et pour la plupart d'entre-elles au voisinage de 25°C. Cependant, deux de ces champignons se différencient très nettement des autres, il s'agit de Pythium sp. et de R. solani qui se caractérisent par une très grande virulence et détruisent très rapidement les plantules, notamment à 20° et 25° C. Le tableau 5 qui indique le nombre de jours nécessaires pour obtenir la mort de la totalité des plantules illustre bien ce point.⁽¹⁾ Ainsi d'après ces résultats on peut classer les champignons testés en trois catégories :

- Champignon non pathogène : il s'agit de Geotrichum albidum et nous verrons plus loin (Cf. chapitre V) que ce champignon peut avoir un certain intérêt pour l'élevage de A. avenae, nématode mycéliophage.

- Champignons pathogènes mais peu virulents : malgré les conditions expérimentales très sévères pour la plante, c'est le cas de Stemphylium sp., Alternaria sp., Fusarium oxysporum, souche 5 (indéterminé) qui même à l'optimum thermique, ne provoquent la mort des plantules qu'assez lentement. Dans les conditions normales de culture, il est permis de penser que ces champignons ne jouent qu'un rôle mineur.

- Champignons pathogènes et très virulents : Pythium sp., R. solani qui tuent la totalité des plantules en 8 jours environ lorsque la température est voisine de l'optimum. Ce sont très probablement ces agents qui provoquent les dégâts les plus graves dans la pratique.

. Pythium sp. semble avoir un optimum thermique légèrement plus bas que R. solani et serait susceptible d'affecter les semis plus précoces. D'autre part, quelques observations nous ont permis de constater que ce champignon se caractérisait par des attaques très précoces et très rapides (voir planche n° 6). Il peut provoquer la pourriture des graines dès leur imbibition ou attaquer les jeunes radicules. Il déterminerait donc principalement des fontes de pré-émergence et il est souvent difficile de retrouver les graines dans le sol, tant leur destruction est totale. Peut-être est ce à cause de cette caractéristique qui laisse les attaques inaperçues, que ce champignon n'a jamais été signalé comme agent possible des fontes de semis du Coton en Syrie ?

Ce présent travail ne comportait pas d'études particulières sur cette espèce, mais dans l'avenir il serait indispensable de préciser le rôle et l'importance pratique de ce champignon. Même si la fréquence se révélait faible, on doit tenir compte du danger que représente cet agent pathogène dans la ruise au point, contre les autres parasites, de méthodes de lutte qui ne doivent pas être trop sélectives.

(1) - Tableau 5 page 35

TABLEAU 5

Nombre de jours pour obtenir une destruction totale des plantules en fonction de température.

Températures	15	20	25	30	35
Champignons					
<u>R. solani</u>	21	12	11	11	21
(A)					
<u>Pythium sp.</u>	17	12	8	17	21
<u>Fusarium oxysporum</u>	21	21	17	21	21
<u>Alternaria sp.</u>	21	17	17	17	21
(5) indéterminé	21	21	21	21	-
<u>Cephalothecium roseum</u>	21	21	21	21	-
<u>Stemphylium sp.</u>	21	21	21	21	-
<u>Helminthosporium sativum</u>	21	21	21	21	21
<u>Geotrichum albibum</u>	avir.	avir.	avir.	avir.	avir.

Le rôle de R. solani, dont l'optimum thermique est légèrement plus élevé que celui de Pythium sp., est mieux connu. Les prospections réalisées en Syrie, ainsi que nos isolements l'ont fréquemment mis en évidence. Compte tenu, d'une part, de son importance pratique bien établie, d'autre part de sa grande virulence à l'égard du Coton, notre travail a porté essentiellement sur ce parasite contre lequel nous cherchons à lutter par des moyens biologiques (déplacements des équilibres microbiens, utilisation de nématodes mycéliophages).

C - QUELQUES PARTICULARITES BIOLOGIQUES DE R. solani.

R. solani est un champignon décrit et étudié depuis fort longtemps. En effet, la création du genre Rhizoctonia a été proposée par DE CANDOLLE en 1815 pour un champignon attaquant les racines de Luzerne (Rhizoctone violet) et Julius KUHN en 1858, découvrant un champignon sur tubercules de Pomme de terre lui donne le nom de R. solani (KUHN).

In vitro ce champignon se caractérise par une croissance rapide, un mycélium brun, plus ou moins foncé, dont le diamètre est assez large (6 à 10 μ). Les hyphes mycéliens sont cloisonnés transversalement (planche n° 3), déterminant des cellules multinucléées de longueur très variable (22 à 250 μ). Les cloisons présentent un pore central permettant la communication entre les cellules.

Les ramifications des hyphes prennent naissance dans le tiers distal de ces cellules, selon des angles de 45° (hyphes jeunes) à 90° (hyphes âgés). Les hyphes secondaires présentent à leur base une constriction caractéristique et une cloison se forme près du point d'origine. Au cours des ramifications successives, R. solani produit généralement des cellules en "tonnelet" très typiques puis des sclérotas de taille variable (1 mm à plusieurs cm) mais de texture à peu près uniforme (planche n° 4). Ces sclérotas assurent, en grande partie, la conservation du champignon. Par ailleurs, les filaments mycéliens de R. solani s'anastomosent très facilement (planche n° 3). Outre son intérêt pour la reconnaissance de l'espèce, cette propriété rassemblant dans une même cellule cytoplasmes et noyaux d'origines différentes peut avoir d'importantes conséquences (génétique, pouvoir pathogène, etc.). R. solani correspond en fait à la forme imparfaite, stérile, d'un champignon basidiomycète qui est appelé actuellement Thanatephorus cucumeris (FRANK) DONK.

Ce parasite se conserve dans le sol et attaque une très large gamme d'hôtes. Il a été signalé sur près de 200 espèces végétales appartenant à 66 famil-

Planche n° 3

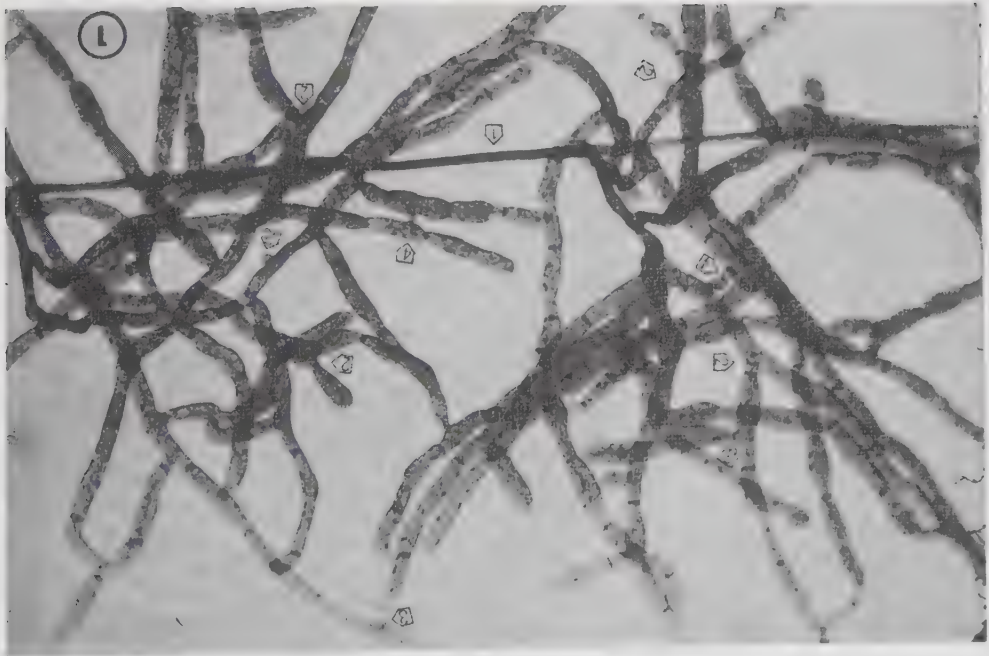
Observation microscopique de R. solani, aspect général du mycélium.

Photo 1 :

1. Hyphe principale conductrice (filament principal conducteur).
2. Ramifications.
3. Etranglement et cloison juste après la ramification.
4. Anastomose

Photo 2 :

Anastomose



les botaniques différentes. Il provoque des symptômes très divers (fontes de semis, chancres des tiges, pourritures de racines, pourritures de fruits et maladies du feuillage) et ses dégâts ont pu être observés dans le monde entier.

En fait, sur le plan mondial, R. solani est l'un des parasites les plus importants des plantes cultivées. Etant donné son importance économique, ce champignon a suscité de très nombreuses recherches dans tous les domaines : Taxonomie, Morphologie, Cytologie, Physiologie, Ecologie, pouvoir pathogène, méthodes de lutte, etc..

Malgré la somme impressionnante de données fournies par ces travaux, regroupés dans l'ouvrage édité par PARMENTIER JR. (Rhizoctonia solani, Biology and Pathology, 1970, le problème de la lutte contre R. solani, n'est pas résolu de façon parfaite. Les possibilités d'intervention au moyen de produits pesticides restent limitées et les meilleurs espoirs sont fondés sur les méthodes d'ordre cultural ou biologique.

D - MANIFESTATIONS DES ATTAQUES DE R. solani SUR LE COTON. STADES DE SENSIBILITE DE LA PLANTE.

Le coton est sensible à R. solani pendant les premiers stades de son développement. Il détermine, selon la précocité et la gravité de l'attaque, différents types de symptômes.

Les attaques très précoces, occasionnant la pourriture de graines dès leur imbibition ou la destruction des plantules avant la levée, provoquent des "fontes de pré-émergence".

Après la levée, de fortes attaques peuvent encore détruire les plantules, déterminant des fontes de post-émergence.

Cependant, à partir d'un certain stade de développement, la plante, grâce à des mécanismes qui ne sont pas élucidés (d'ordre mécanique ou biochimique) devient plus résistante. Les attaques de R. solani se caractérisent alors, par des chancres nécrotiques plus ou moins importants à la base des tiges mais la plante peut survivre.

Ainsi les plantules de Coton deviennent progressivement de plus en plus résistantes à R. solani. Il nous a paru intéressant de rechercher, au moyen d'irradiations échelonnées, au bout de combien de temps les attaques de R. solani ne sont plus à craindre, ceci devrait déterminer la durée minimum d'action d'un procédé de lutte quelconque.

... ..
... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

... ..
... ..

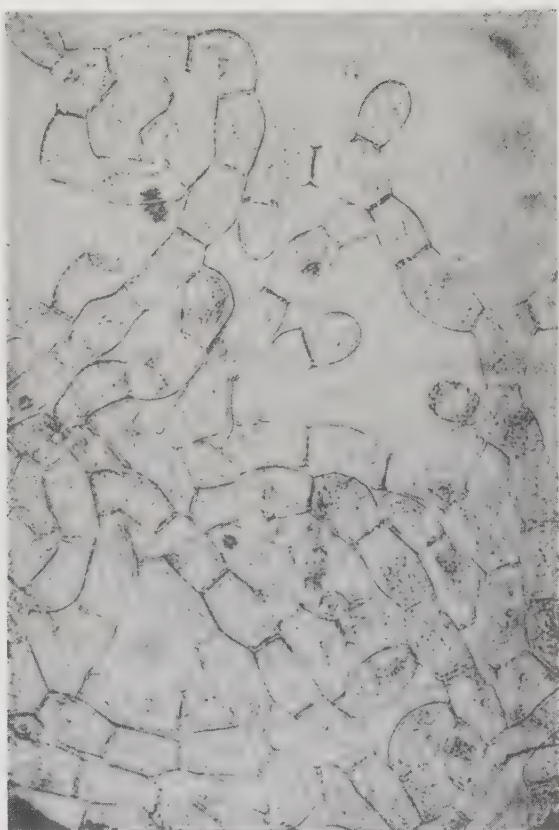
... ..
... ..

Planche n° 4

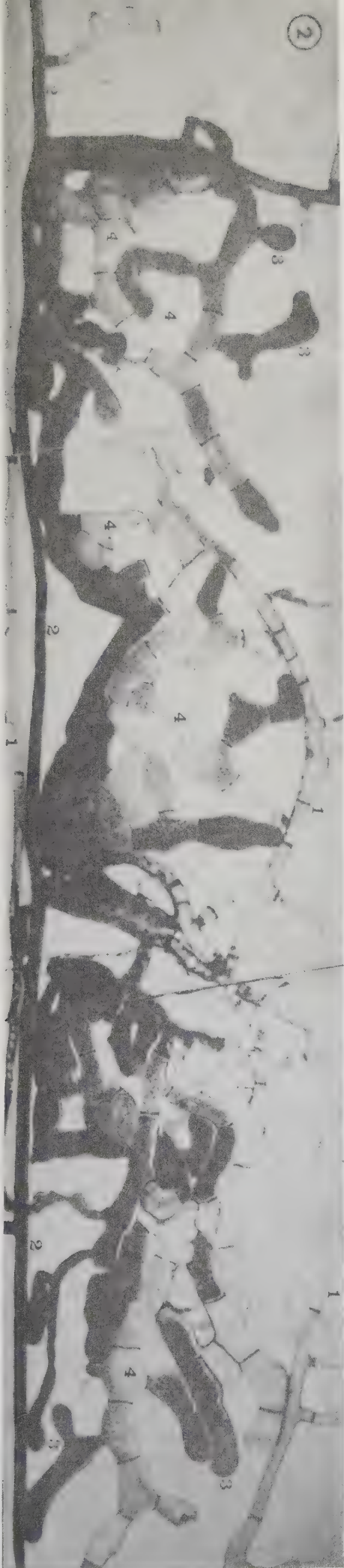
Observation microscopique de R. solani, sur les lames- âgées
(cellules en tonnelet et initiation des sclérotas).

1. Préparation non colorée .
2. Préparation colorée au "bleu coton".

- 1 - Filament mycélien mort .
- 2 - Filament mycélien conducteur vivant .
- 3 - Cellules en tonnelet jeunes se colorant rapidement .
- 4 - Cellules en tonnelet âgées se colorant lentement .



1



Les dates d'inoculation suivantes ont été comparées :

- T₁ : terre saine : témoin non inoculé -
- T₂ : terre saine/ + inoculation par un inoculum stérilisé au moment du semis.
- T₃ : terre inoculée par un inoculum vivant 5 jours avant le semis
- T₄ : terre inoculée au moment du semis
- T₅ : terre inoculée 5 jours après le semis
- T₆ : terre inoculée 10 jours après le semis
- T₇ : terre inoculée 15 jours après le semis
- T₈ : terre inoculée 20 jours après le semis
- T₉ : terre inoculée 25 jours après le semis
- T₁₀ : terre inoculée 30 jours après le semis

L'essai a été réalisé en pots de 12 cm de diamètre, recevant chacun 5 graines de Coton délintées. Ces pots sont placés dans la serre, à 20-25° C et arrosés par capillarité. L'inoculum est constitué à chaque fois par une culture, sur malt liquide, de R. solani, âgée de 10 jours et passée au mixer.

Pour apporter cet inoculum au voisinage des plantules, 5 tubes de 1 cm de diamètre, en matière plastique, perforés à différents niveaux, ont été enfoncés dans chaque pot. L'inoculum est déversé dans ces tubes à raison de 5 ml par tube (soit 25 ml par pots). 10 pots sont ainsi préparés à chaque date d'inoculation.

Les notations effectuées sur la germination et sur les plantes survivantes en fin d'expérience permettent de tracer la figure 7.

Ces résultats montrent que les inoculations précoces effectuées 5 jours avant ou le jour même du semis, sont les plus dangereuses puisqu'elles provoquent la destruction presque totale des plantules avant la levée.

Lors d'inoculations effectuées 5 à 10 jours après le semis, la levée est déjà réalisée mais on enregistre cependant respectivement 40 et 33 % de fontes de post-émergence.

Par contre, les plantules ^{sont} ne pas détruites par les inoculations plus tardives et leur état sanitaire en fin d'expérience est très bon. (voir planche n° 5).

Par conséquent la période de sensibilité des plantules de Coton à

FIG. N° 7

DETERMINATION DE LA PERIODE DE SENSIBILITE DES
PLANTULES DE COTON A R. SOLANI A 25°C :

INFLUENCE D'INOCULATION^S ECHELONNEES (DE
5 JOURS AVANT A 30 JOURS APRES LE SEMIS)
SUR LE POURCENTAGE DE PLANTULES LEVEES
ET DE PLANTES VIVANTES A LA FIN D'ESSAI.

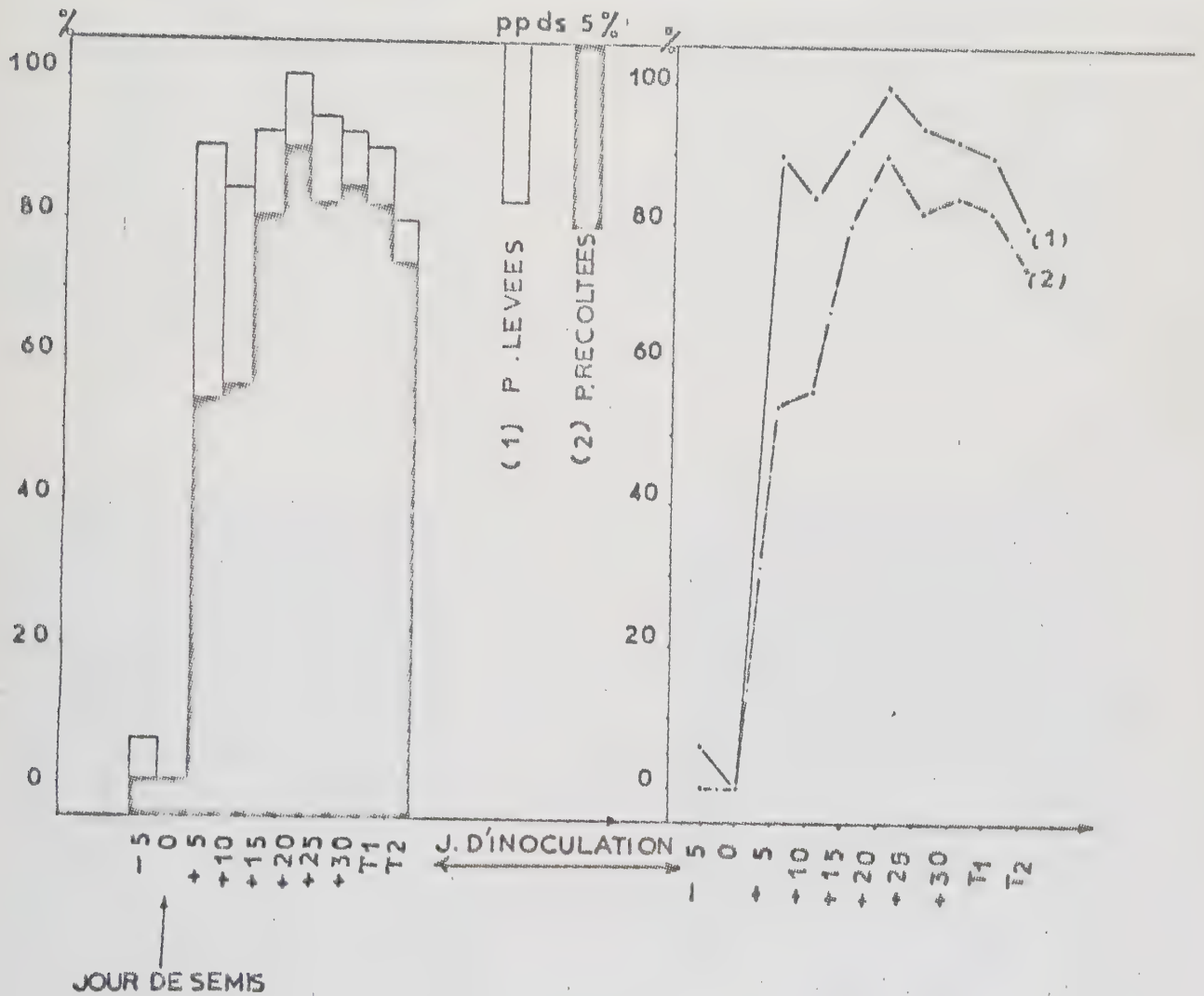


Planche n° 5

Appréciation de la période de sensibilité des plantules de Coton
à R. solani.

TI : témoin non infesté .

T2 : témoin inoculé par une souche préalablement autoclavée.

Photo 1 : 3. Inoculation du sol 5 jours avant le semis .

4. Inoculation du sol au moment du semis

Photo 2 : 5. Inoculation du sol 5 jours après le semis .

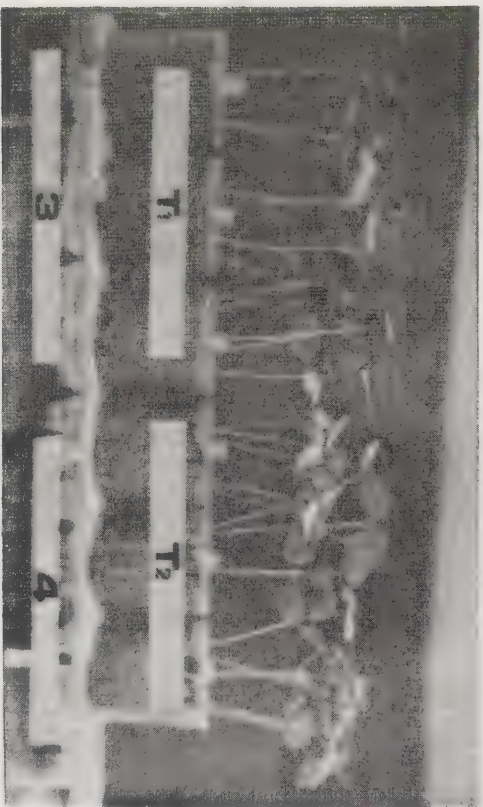
6. Inoculation du sol 10 jours après le semis .

Photo 3 : 7. Inoculation du sol 15 jours après le semis .

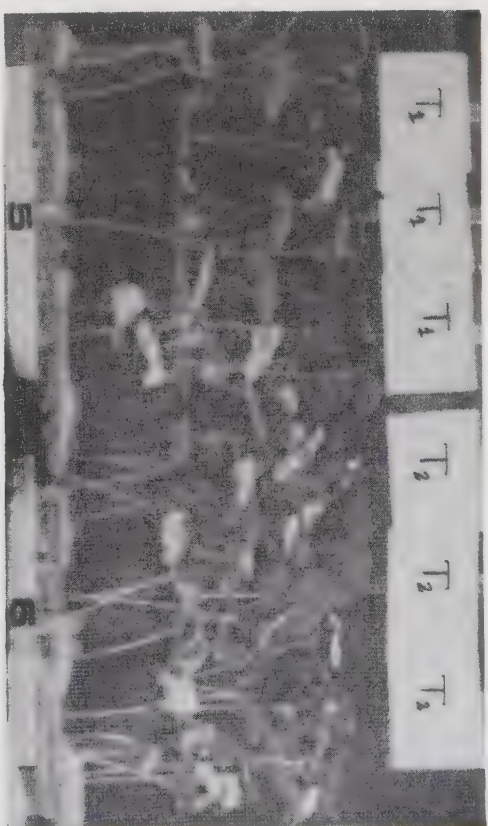
8. Inoculation du sol 20 jours après le semis .

Photo 4 : 9. Inoculation du sol 25 jours après le semis

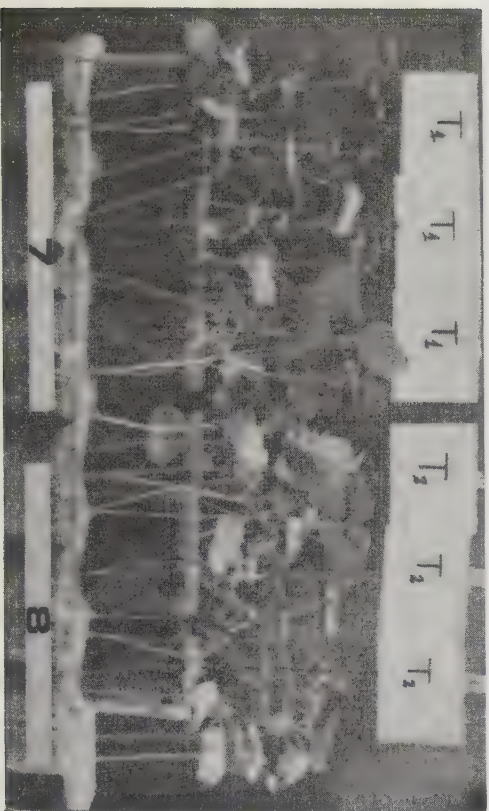
10. Inoculation du sol 30 jours après le semis .



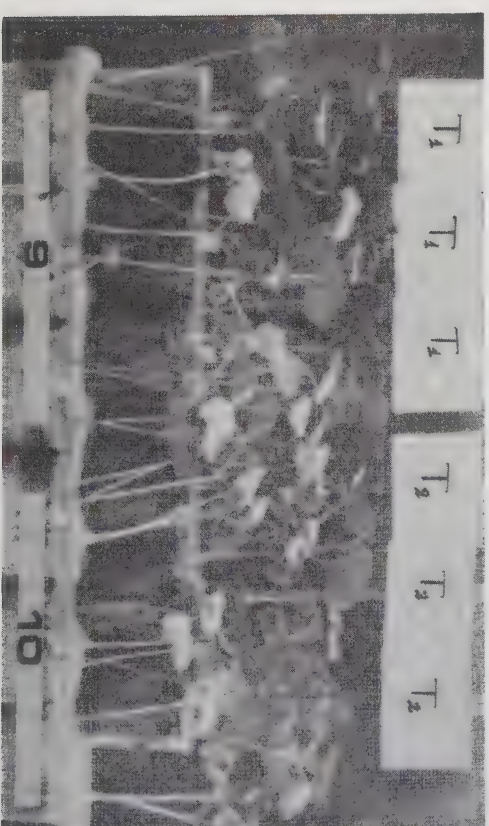
1



2



3



4

R. solani, paraît relativement courte. Dans les conditions de cet essai elle est comprise entre 10 et 15 jours. Par la suite, la présence du parasite n'affecte plus le comportement de la plante. Il est possible que la durée de cette période de sensibilité varie suivant les conditions (température, humidité, variété de Coton, nature et importance de l'inoculum).

Des expériences complémentaires seraient donc nécessaires pour obtenir plus de précisions mais dans un premier temps on peut admettre que la période pendant laquelle les plantules sont sensibles ne doit en tout cas pas excéder 20 jours.

Outre son intérêt immédiat, ce résultat pourrait déboucher sur l'étude plus théorique de certains aspects des relations plante-parasite : quelles sont chez la plante les modifications qui la font passer en quelques jours d'un état de très grande sensibilité à un état de résistance totale ?

Certains éléments de réponse existent (KERR et FLENTJE, 1957), (in DODMAN et FLENTJE, 1970), (FLENTJE et al., 1963), etc... en particulier, pensent que la formation des "appresoria qui précèdent la pénétration de R. solani est favorisée par les excréments des graines en germination. Par la suite, ces excréments sont produits en moins grande abondance et la plantule acquiert des propriétés anatomiques et biochimiques qui lui permettent de résister à l'infection (cires, pectates de Ca, etc.).

E - SPECIFICITE PARASITAIRE DE R. solani - CHOIX DES SOUCHES EXPERIMENTALES.

R. solani est une espèce très variable pour différents caractères (morphologique, anatomique, physiologique) et en particulier pour le pouvoir pathogène. Divers travaux, dont ceux de MESSIAEN et BEYRIES (1965b) ont été consacrés à l'étude de ce problème.

En ce qui nous **concerne**, il nous était utile de pouvoir disposer, pour la suite de notre travail, de souches de R. solani, pathogènes et non pathogènes pour le Coton : pour cela des tests in vitro et in vivo ont été réalisés.

1 - Tests IN VITRO.

La virulence de 12 souches de R. solani sur le Coton a été appréciée selon la technique d'inoculation en tubes. Ces souches avaient été auparavant isolées des plantes-hôtes suivantes :

Coton, Lin, Tomate, Chou, Blé, Pomme de terre, Poivron, Mâche, Carotte, Tulipe, Laitue, Chrysanthème. 9 tubes comportant 2 plantules chacun, soit 18 plantules âgées d'une semaine, ont été inoculées à l'aide d'un explantat de chacune de ces souches cultivées pendant une semaine sur extrait de malt gélosé. Les tubes sont placés à 25° C et éclairés 15 h par jour.

Les résultats des notations qui sont présentés à l'aide de la figure 8 permettent de classer ces souches en 3 groupes :

1. souches virulentes : Coton, Lin, Poivron
2. souches de virulence moyenne : Tulipe, Chrysanthème, Mâche.
3. souches peu virulentes : Pomme de terre, Blé, Carotte, Laitue, Chou, Tomate.

La souche Tomate qui a provoqué la mort des plantules, pourrait entrer dans un groupe intermédiaire entre 2 et 3 mais son action est très lente et en conditions moins propices et in vivo, elle est négligeable.

Par ailleurs, certaines souches peu virulentes (Pomme de terre, Carotte) bien que n'affectant nullement les plantules, les utilisaient comme support pour former, parfois en abondance, des sclérotés (planche n° 6) montrant ainsi clairement que virulence et formation des sclérotés sont deux phénomènes bien distincts.

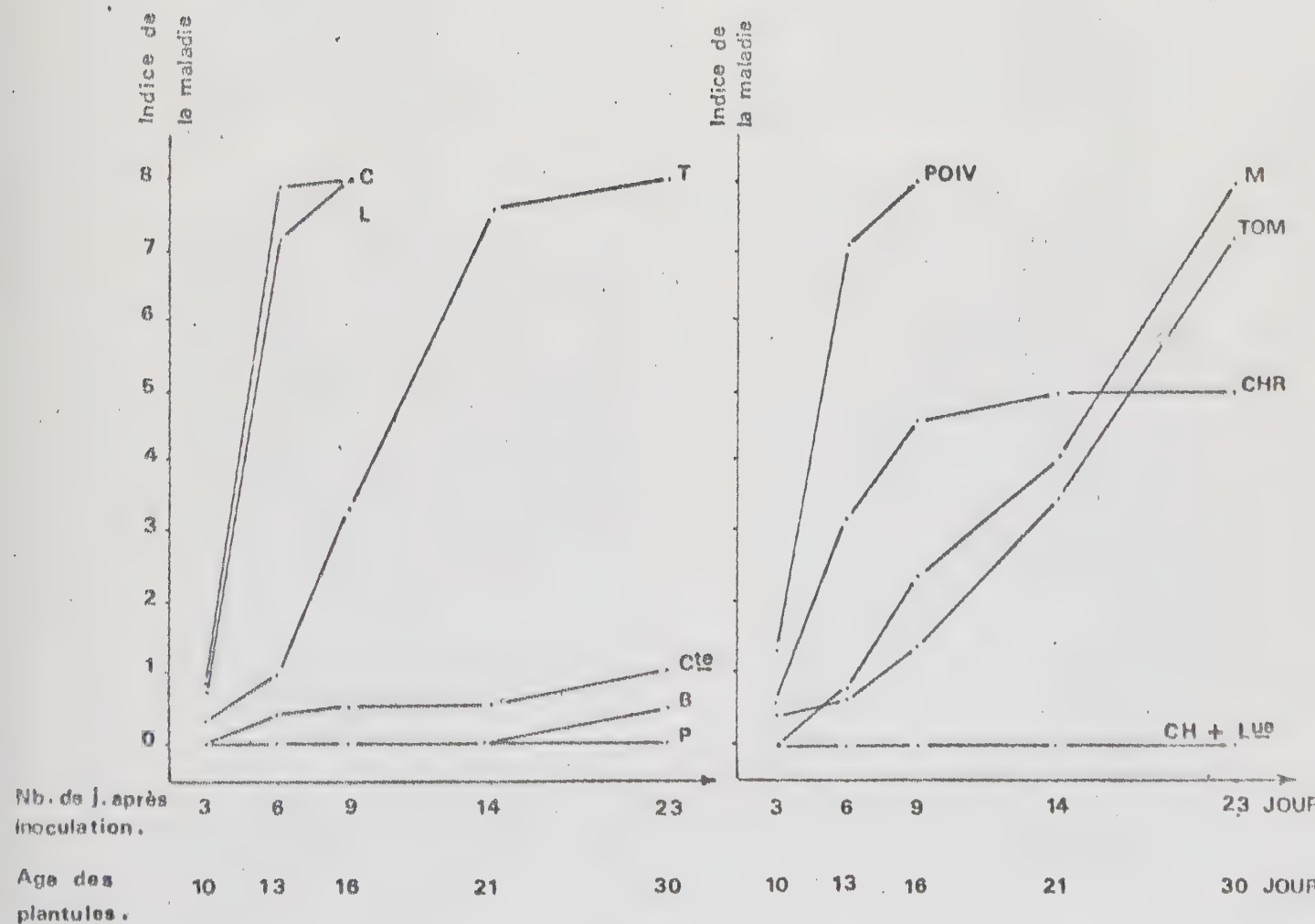
2 - Tests IN VIVO.

Pour confirmer ces résultats, des inoculations ont été réalisées in vivo. Un mélange terroir a été infesté par une culture sur vermiculite des souches Coton, Blé, Lin, Chou, Pomme de terre, Tomate. Cette terre est répartie en 4 terrines qui sont disposées dans la serre à 25° C et semées chacune de 20 graines de Coton. La figure 9 représente le nombre de plantules vivantes à la fin de l'essai. Ces résultats confirment pleinement les tests in vitro puisque ces 6 souches se répartissent dans les mêmes groupes que précédemment.

- Souches virulentes : Coton, Lin
- Souches peu virulentes : Chou, Blé, Pomme de terre, Tomate.

La souche "Coton" est très nettement la plus virulente puisqu'elle n'a permis aucune levée. En présence de la souche Lin, les attaques ont été moins rapides, un certain pourcentage de levée a été obtenu, mais finalement ces plantules ont été détruites à leur tour.

Fig. 8 - Spécificité parasitaire chez R. solani : appréciation de la virulence de quelques souches de R. solani, isolées de diverses plantes, sur plantules de Coton élevées en tubes, à 25°C.



Origine des souches de R. solani

C = COTON

L = LIN

T = TULIPE

Cte = CAROTTE

B = BLE

P = POMME de TERRE

POIV = POIVRON

M = MACHE

TOM = TOMATE

CHR = CHRYSANTHEME

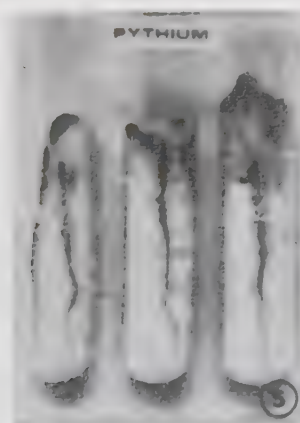
CH = CHOU

Lue = LAITUE

Planche n° 6

Virulence de diverses espèces et souches de champignons sur
plantules de Coton élevées sur perlite.

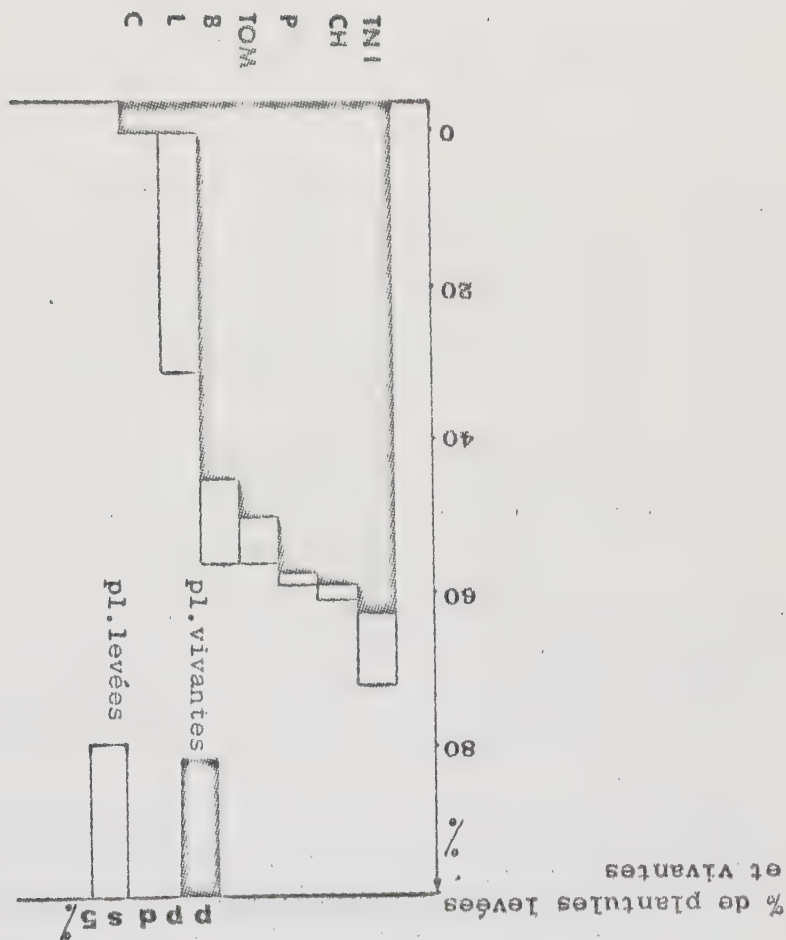
1. R. solani souche isolée du Coton .
2. Souches de R. solani isolées du Lin et de la Pomme de terre.
(Remarquer la souche isolée de la Pomme de terre bien
que peu virulente forme des sclérotés sur les plantules
inoculées).
3. Fusarium oxysporum isolée du Coton
4. Alternaria sp. isolée du Coton
5. Pythium sp. Noter les attaques très précoces (fontes de pré-
émergence).



Ces quelques résultats illustrent bien la grande variabilité de la virulence chez R. solani, à l'égard d'un même hôte. Malgré des conditions d'inoculations très sévères pour la plante, un certain nombre n'ont aucun effet alors que d'autres ont une action très rapide.

Des conséquences intéressantes peuvent en être déduites sur le plan théorique (problème de la virulence), expérimental (choix des souches) et pratique (successions culturales).

Fig. 9 - Spécificité parasitaire chez *R. solani* : appréciation de la virulence de quelques souches de *R. solani*, isolées de diverses plantes, sur plantules de Coton élevées en terrines dans la serre, à 25°C environ.



Origine des souches de *R. solani*

CH : Chou
 B : Blé
 L : Lin
 P : Pomme de Terre
 TOM : Tomate
 C : Coton
 TNI : Terre non infestée.

- CHAPITRE IV -

LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE R. solani DU COTON PAR DEPLACEMENT DES EQUILIBRES
MICROBIENS DU SOL.

A - INTRODUCTION.

Les équilibres microbiens dans un sol cultivé se modifient en fonction de divers facteurs et notamment en fonction des plantes cultivées, qui jouent un rôle sélectif. Ceci explique l'apparition et l'augmentation progressive des maladies cryptogamiques dans les champs initialement dépourvus de parasites et ce phénomène est d'autant plus net qu'il s'agit de monocultures.

Pour rétablir l'équilibre plante-parasite, en faveur de la plante, on peut chercher à intervenir de façon indirecte en tentant de déplacer l'équilibre des biocénoses du sol dans un sens défavorable au parasite.

Différentes possibilités théoriques existent mais nous avons surtout cherché à stimuler sélectivement certaines fractions de la microflore déjà en place en incorporant au sol des substrats nutritifs particuliers.

Au cours de nos essais, nous avons cherché à effectuer un choix parmi les substrats utilisables et à en préciser les modalités optimales d'application. Enfin, par diverses études en modèle et par analyses microbiologiques, nous avons tenté de préciser le mode d'action des substrats et de déterminer quelles étaient les fractions actives de la microflore.

B - COMPARAISON DE L'EFFICACITE DE DIVERS SUBSTRATS.

1 - Premier essai.

a) - Protocole expérimental.

Un premier essai a eu pour but de comparer l'efficacité de divers substrats organiques incorporés dans un sol infesté artificiellement par R. solani. L'inoculum est préparé sur de la vermiculite à laquelle est ajouté un extrait de malt à 2 %. Les premières incorporations de substrats sont réalisées 10 jours après l'infestation des sols.

A partir de ce protocole expérimental, nous avons pu comparer l'efficacité des différents substrats : Cellulose (C) (*) et Farine de soja (F.S.) mis seuls ou en associations et à des dates différentes. Pour la clarté de notre exposé, nous avons fait suivre l'initiale du substrat utilisé C ou F.S. d'un nombre indiquant le décalage en jours entre l'incorporation du substrat et la réalisation du semis, et le tableau 6 suivant résume l'essentiel des opérations.

N° du traitement	Code du traitement	Incorporation des substrats			1er semis
		Infestation	10	25	40 jours
1	C.30,FS 15	↓	C	FS	↓
2	FS 15	↓			↓
3	C 30	↓	C		↓
4	C 15	↓			↓
5	C 1	↓		C	↓
6	FS 30	↓			C ↓
7	FS 1	↓	FS		↓
8	TI	↓			FS ↓
9	Tn1		Témoin sans substrat		
			Témoin non infesté		

Pendant la période qui sépare l'infestation du semis (soit 40 jours), nous veillons à ce que les terres restent dans des conditions d'humidité optimales pour la réussite d'un semis et à chaque incorporation de substrats les terres non traitées sont remuées de la même manière que celles qui reçoivent un substrat.

Les semis sont réalisés dans des terrines (5 répétitions) à raison de 20 graines de Coton délintées par terrine, à une profondeur de 1 à 2 cm. Les notations portent ensuite sur la germination et sur l'évolution des attaques de R. solani, jusqu'à l'arrachage.

b) - Résultats du premier semis : effet direct.

Les résultats des diverses notations effectuées sur la germination et le nombre de plantules vivantes figurent dans le tableau 7.

(*) - Sous la forme broyée du Papier Pasteur 603 n° 9272.

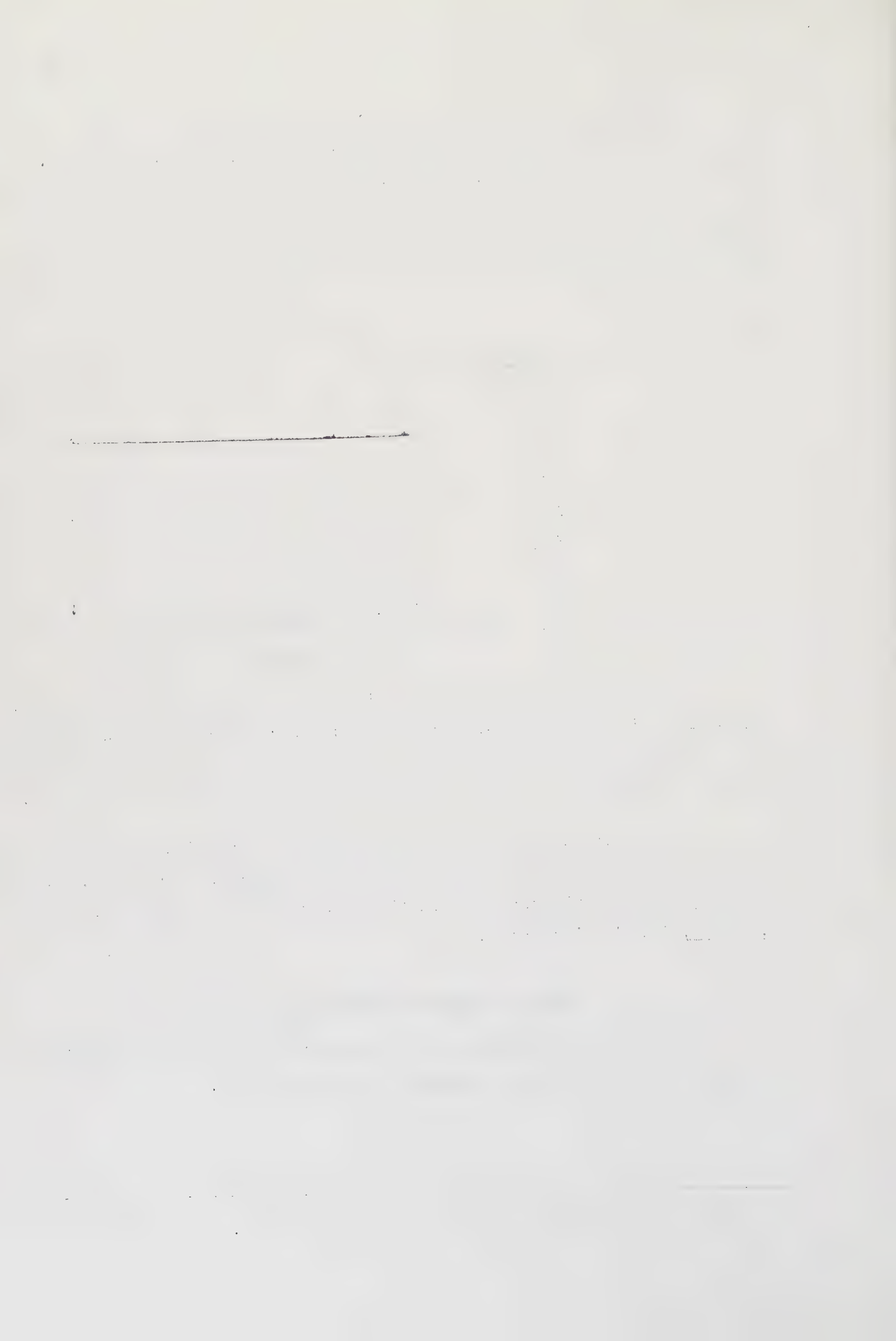


TABLEAU 7

Influence de l'incorporation de cellulose et de farine de soja à des dates échelonnées sur les attaques de R. solani.

N° traitement	Code du traitement	Nombre de graines levées sur 100	Nombre des plantules récoltées sur 100
1	C 30, FS 15	59	9
2	FS 15	38	0
3	C 30	45	16
4	C 15	30	5
5	C 1	30	9
6	FS 30	38	37
7	FS 1	1	0
8	T1	46	18
9	TN1	50	47

L'analyse statistique a porté à la fois sur le nombre de graines levées et de plantules récoltées.

TABLEAU 8

Analyse statistique des résultats du 1er semis.

Notations		F	F Théorique		PPDS
		calculé	1 %	5 %	5 %
Plantules levées	Répétitions	2,75	3,97	2,67	-
	Traitements	12,77	3,12	2,25	2,68
Plantules récoltées	Répétitions	1,43	3,97	2,67	-
	Traitements	23,98	3,12	2,25	1,93

Il apparaît qu'il n'y a pas de différences significatives entre les répétitions c'est-à-dire que l'essai est homogène, par contre les différences entre les traitements sont significatives.

En ce qui concerne la levée, les traitements se classent dans l'ordre suivant :

TABLEAU 9

Classement des traitements en fonction du nombre de plantules levées.

N° de traitement :	1	TNI (9)	TI (8)	3	2	6	5	4	7
Moyenne/terrine :	11,8	10	9,2	9	7,6	7,6	6	6	0,2
PPDS									
5 %									
(2,68)									

Nous constatons que 4 traitements ne sont pas significativement différents du témoin non infesté (9) au seuil de 5 %. Il s'agit de l'incorporation de cellulose 30 jours avant le semis suivi de celle de la farine de soja 15 jours plus tard, du traitement avec l'incorporation de cellulose seule 30 jours avant le semis, et du traitement avec l'incorporation de la farine de soja 15 jours et 30 jours avant le semis (figure 10).

Nous pouvons surtout noter que certains traitements (C₁, C₁₅ et FS₁) ont, au contraire, une action très néfaste en augmentant les fentes de pré-émergence.

Pour le nombre de plantules récoltées, les différences entre les traitements sont également hautement significatives et nous avons établi le tableau de la comparaison suivant, entre les traitements.

T A B L E A U 10

Classement des traitements en fonction du nombre de plantes récoltées.

N° du traitement :	TNI	6	TI	3	1	5	4	7	2
	(9)		(8)						
Moyenne/terraine :	9,4	7,4	3,6	3,2	1,8	1,8	1	0	0
PPDS									
5 %									
(1,93)									

On constate que l'incorporation de la farine de Soja 30 jours avant le semis a réduit les attaques des plantules par rapport au témoin infesté et cette différence est significative au seuil de 5 %.

On note aussi que la terre témoin non infestée n'était pas dépourvue d'agents pathogènes puisque certaines plantules étaient attaquées par Fusarium sp. et Alternaria sp. comme des isollements ont pu nous le montrer. Nous cherchons pour les autres expérimentations une terre "saine" en testant différents échantillons de sol afin de pouvoir choisir la terre la plus saine possible.

Au cours de l'essai, l'effet "azote" de la farine de Soja a pu être noté et nous avons cherché à l'apprécier par la mesure de la surface de la première feuille pour toutes les plantules récoltées dans les trois traitements suivants : témoin infesté, témoin non infesté et FS 30. La moyenne générale est respectivement de 9,1, 12,6 et 21,2 cm². La plus petite différence significative est de 5,18 au seuil de 5 %. Donc la surface foliaire des plantules récoltées dans la terre ayant reçu de la farine de Soja 30 jours avant le semis est significativement supérieure à celle des témoins.

c) - Résultats du 2^e semis : arrière-effet (figure 10).

Nous avons cherché à apprécier l'arrière-effet des différents traitements en effectuant un 2^e semis (30 jours après le 1^{er}) dans les différentes terrines. Comme dans le cas précédent, nous avons noté la germination et le nombre de plantules récoltées (tableau 11).

T A B L E A U 11

Résultats du 2e semis : arrière-effet de l'incorporation de divers substrats nutritifs sur les attaques de R. solani.

N°	Traitements	Pourcentage des plantules levées	Pourcentage de plantules récoltées
	Code		
1	C ₃₀ FS ₁₅	0,03	0,32
2	FS ₁₅	0,01	0
3	C ₃₀	25,6	18,4
4	C ₁₅	28	17,6
5	C ₁	25,6	16
6	FS ₃₀	56,8	54,4
7	FS ₁	12,8	3,2
8	TI	28	25,6
9	TNI	44	43,2

L'analyse statistique a porté à la fois sur la germination et le nombre de plantules récoltées.

T A B L E A U 12

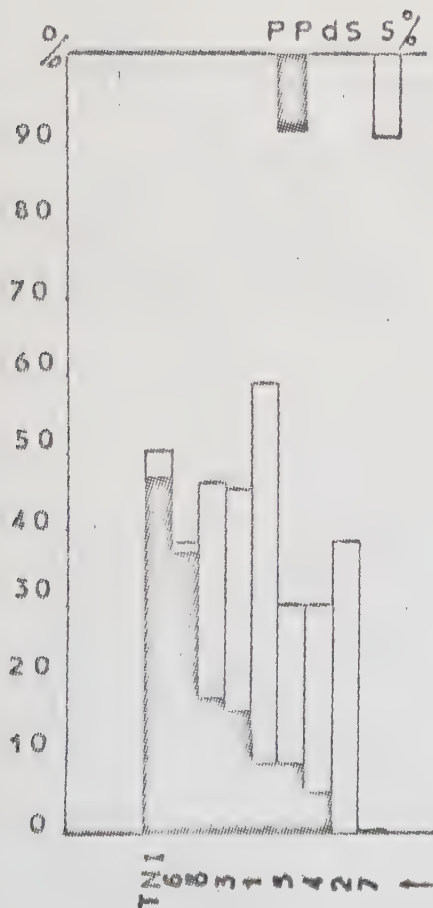
Analyse statistique des résultats du 2e semis.

Notations		F calculé	F Théorique		PPDS 5 %
			1 %	5 %	
Plantules levées	Répétitions	0,9	3,97	2,67	
	Traitements	9,32	3,12	2,25	5,5
Plantules récoltées	Répétitions	0,46	3,97	2,67	
	Traitements	11,58	5,12	2,25	3,37

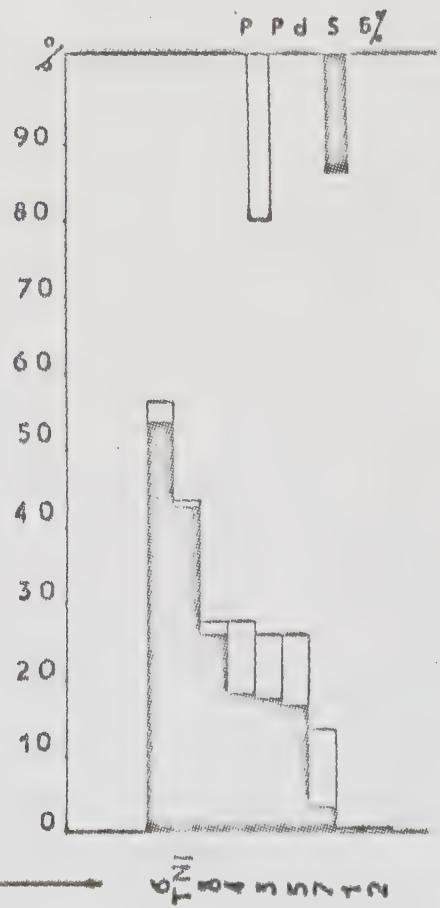
FIG. N° 10

INFLUENCE SUR LES ATTAQUES DE R.SOLANI DES SUBSTRATS,
CELLULOSE ET FARINE DE SOJA, INCORPORES AU SOL, SEUL
OU EN ASSOCIATION, A DES DATES ECHELONNEES (30 JOURS,
15 JOURS ET 1 JOURS AVANT LE SEMIS).

EFFET DIRECT: 1^{er} SEMIS
POURCENTAGE DE PLANTULES LEVEES
ET DE PLANTES RECOLTEES



ARRIERE EFFET: 2^e SEMIS
POURCENTAGE DE PLANTULES LEVEES
ET DE PLANTES RECOLTEES



En blanc: plantules levées

En noir: plantules récoltées

Nous pouvons conclure que l'essai reste homogène et que les différences entre les traitements pour la levée sont significatives. La comparaison des traitements (tableau 13 montre que la farine de Soja incorporée 30 jours avant le semis est supérieure aux autres traitements et que son action est identique au témoin non infesté.

TABLEAU 13

Classement des traitements pour la levée des plantules.

N° de traitement	6	TNI (9)	4	TI (8)	5	3	7	1	2
Moyenne/Terrine	14,2	11	7	7	6,4	6,4	3,2	0,8	0,2
PPDS									
5 %									
(5,5)									

En ce qui concerne le nombre de plantules récoltées on constate que l'action bénéfique de l'incorporation de la farine de Soja 30 jours avant le semis se retrouve également à ce niveau et c'est le seul traitement non significativement différent du témoin non infesté.

TABLEAU 14

Classement des traitements pour les plantules récoltées.

N° de traitement	6	TNI (9)	TI (8)	3	4	5	7	1	2
Moyenne/terrinc	13,6	10,8	6,4	4,6	4,4	4	0,8	0,6	0,2
PPDS									
5 %									
(3,37)									

d) - Discussion.

L'incorporation de la cellulose dans le sol peut réduire l'incidence des fontes de semis de pré-émergence, bien que les résultats ne soient pas nets, il semble que ce traitement inhibe R. solani à condition d'être réalisé long-

temps avant le semis (1 mois ou plus). Par contre, les incorporations effectuées peu de temps avant le semis augmentent les attaques ce qui laisse supposer une stimulation momentanée du parasite.

L'interprétation de ces résultats est très délicate.

On sait que le rapport C/N joue un rôle important sur l'activité de R. solani, quand il est compris entre 40 et 100, l'inhibition du parasite est beaucoup plus forte que pour des valeurs extrêmes (C/N entre 200 et 400 ou C/N inférieur à 20). (GARRETT, 1965 ; LEACH and GARBER, 1970).

Par ailleurs, l'utilisation de la Cellulose par les microorganismes cellulolytiques du sol conduit à une augmentation de la concentration de CO₂ suffisante, selon certains auteurs (PAPAVIZAS et al., 1968) pour inhiber temporairement R. solani. Mais par la suite le champignon semble pouvoir reprendre son développement et provoquer des fontes des semis de post-émergence.

Tout se passe donc comme si dans une première phase, R. solani, lui-même cellulolytique, se trouvait stimulé. Par contre, dans une seconde phase, l'activité des microorganismes augmentant, le champignon se trouve défavorisé. Cependant, l'utilisation de la Cellulose reste délicate si bien que nous ne l'avons pas retenue pour la suite de nos essais.

L'action de la farine de Soja est beaucoup plus nette. Dans les jours qui suivent l'incorporation, R. solani, dont les grandes aptitudes saprophytiques sont bien connues, est fortement stimulé. Mais par la suite, la microflore bactérienne et actinomycétale se multiplie à son tour ce qui conduit à une très nette inhibition du champignon. Il semble donc indispensable de ménager un temps d'action suffisant, d'au moins un mois dans nos conditions expérimentales, pour obtenir une bonne protection des plantules.

Le deuxième semis, effectué un mois après le premier devrait permettre théoriquement, d'obtenir de bons résultats avec les traitements FS₁ et FS₁₅. Il n'en est rien et il semble que la présence de l'hôte sensible ait modifié ce résultat en augmentant le niveau d'inoculum du sol dans de fortes proportions.

Ces résultats montrent que, l'incorporation au sol, moyennant certaines modalités, de substrats à base de protéines permettent de réduire efficacement les attaques de R. solani. La teneur des substrats en protéines semblerait un facteur déterminant et dans cette optique nous avons voulu comparer l'effi-

cacité de la farine de Soja à d'autres substrats plus riches : le tourteau de Soja cru à 50 % de protéines et le tourteau de coton décortiqué et le tourteau de coton non décortiqué. Par ailleurs, nous avons voulu tester d'autres types de substrats comme de la poudre d'Algues. La composition chimique de ces substrats est figurée dans le tableau A1 (voir l'annexe).

.- Deuxième essai.

a) - Protocole expérimental.

Compte tenu des éléments précédents, le deuxième essai a mis en comparaison les traitements suivants :

1. TNI terre non infestée
2. TI terre infestée
3. TI + FS " " + farine de Soja micronisée
4. TI + TS " " + tourteau de Soja
5. TI + TCD " " + tourteau de coton décortiqué et micronisé
6. TI + TC " " + tourteau de coton non décortiqué et micronisé
7. TI + A " " + poudre d'Algue

En dehors du témoin non inoculé, l'infestation des terres et l'incorporation des différents substrats sont réalisés le même jour. Les terres ainsi préparées sont maintenues avec un taux d'humidité satisfaisant au cours des deux mois d'incubation séparant les traitements du semis. Le pH a été mesuré avant l'incorporation des substrats et juste avant le semis (tableau 15).

T A B L E A U 15

pH des différentes terres, mesuré juste avant le semis.

Traitements	pH	Traitements	pH
TNI	6,4	TI	6,6
TI + TCD	5,25	TI + TC	5,30
TI + TS	5,15	TI + TS	5,9
TI + A	6,7		

Au moment du semis, 1 kg de terre de chaque échantillon a été prélevé afin de procéder à des études particulières sur la recherche de phénomènes généraux d'antagonisme, le reste des terres est réparti dans huit pots de 12 cm (8 répétitions de chaque traitement), chaque pot est ensemencé par 5 graines puis placé en serre.

b) - Résultats du premier semis (effet direct).

Dans les terres ayant reçu du tourteau de Coton dédortiqué ou non dédortiqué ou de la farine de Soja, aucune graine n'a germé tandis que la levée dans les autres terres était de 95 % pour le témoin non infesté, de 82,5 % pour la terre avec tourteau de Soja, de 77,5 % pour le témoin infesté et de 70 % pour la terre avec poudre d'Algue (Planche n° 7, figure 12). L'analyse statistique montre que les différences entre les traitements sont hautement significatives et l'essai est homogène.

TABLEAU 16

Action des différents traitements sur la levée de coton en terre infestée par R. solani.

F	Traitements			TNI	Terre infestée					
					TS	TI	A	TCD	TC	MC
Calculé	Théorique	Nb moyen de								
1 %	5 %	plantules le-		4,75	4,12	3,87	3,5	0,12	0	0
		vées pa · pot								
Répétitions	0,7	3,10	2,24							
Traitements	60,42	3,26	2,32	PPDS 5 %						

Au cours de l'essai nous avons aussi noté les fontes de semis de post-émergence en fonction du temps (figure 11).

Au bout de 45 jours les plantules sont arrachées et nous notons le nombre de plantules récoltées, l'intensité des attaques de R. solani, le poids frais de la récolte de chaque pot ainsi que le poids frais des racines. Les différences sont très significatives, en faveur de tourteau de Soja qui égale le témoin non inoculé. Cet effet bénéfique du tourteau de Soja ne se retrouve que partiellement lors de notations de l'intensité de la maladie.

Les tableaux 17, 18, 19 et 20 permettent de comparer entre eux les différents traitements.

Fig. 11

ACTION DE DIVERS SUBSTRATS SUR L'EVOLUTION
DES ATTAQUES DE R. SOLANI APPRECIEE
PAR LA DESTRUCTION DES PLANTULES DE
COTON.

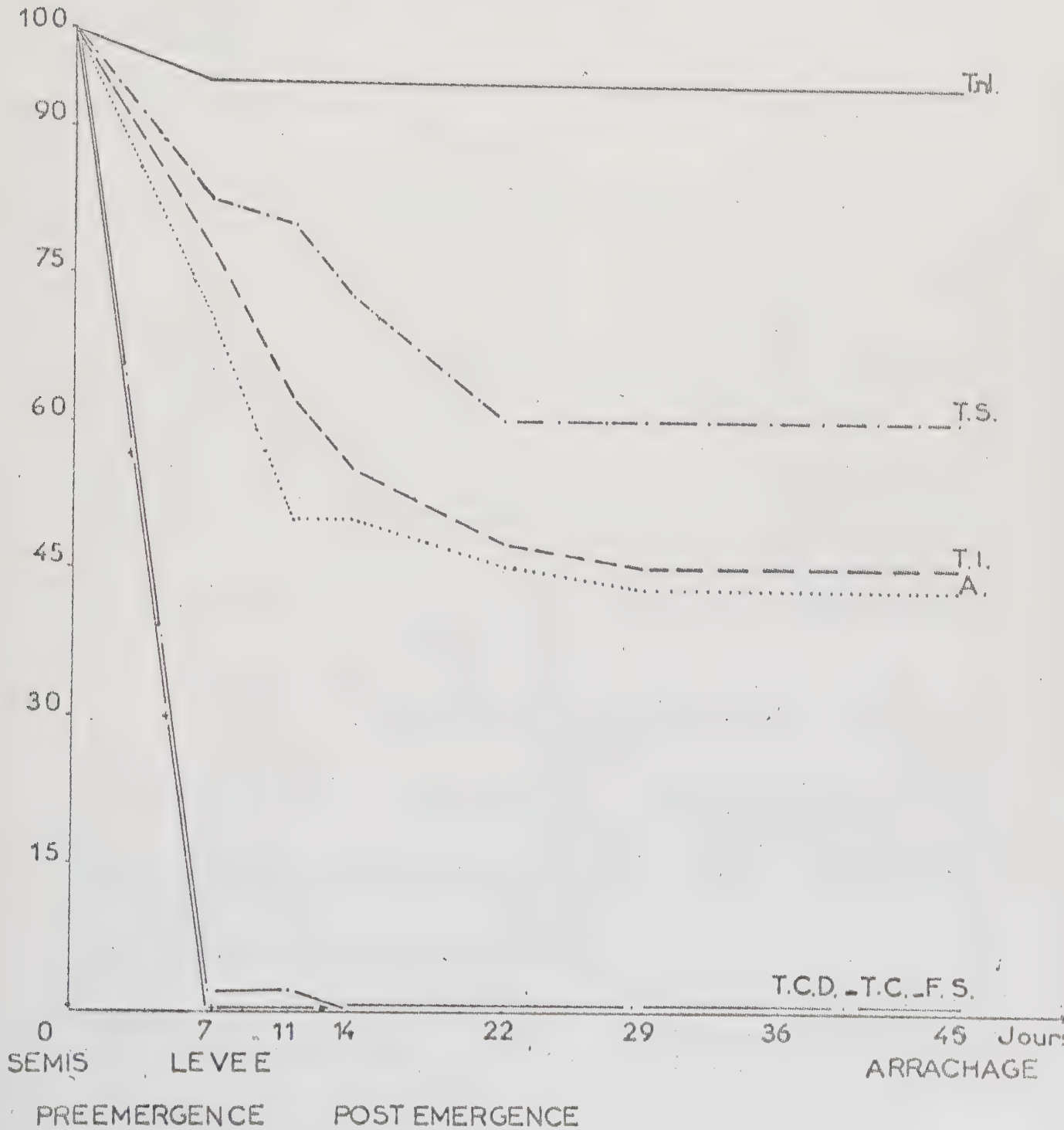


TABLEAU 17

Action des traitements sur l'intensité de la maladie.

Traitements	TNI	Terre infestée					
		TS	A	TI	TCD	TC	FS
Intensité moyenne de la maladie	5	41,5	56	66	99,5	100	100

TABLEAU 18

Influence des traitements sur le poids frais des plantules exprimé en gramme par pot.

Traitements	TI	TNI	Terre infestée				
	TS		A	TI	TCD	TC	FS
Poids moyen par pot/g	17,6	14	7,4	4	0	0	0
PPDS 5 % (4,38)							

TABLEAU 19

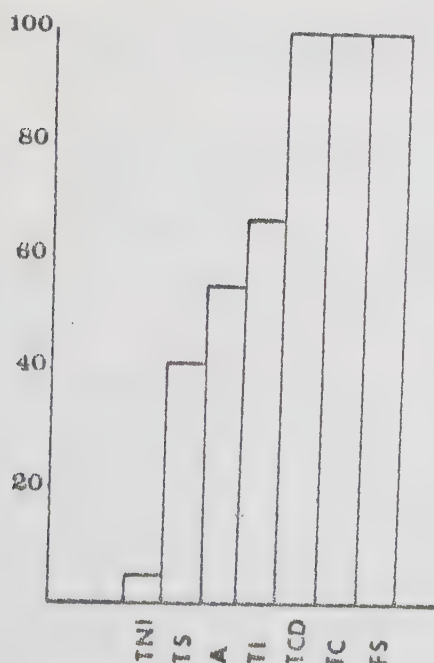
Influence des traitements pour le poids frais des racines exprimé en gramme par pot.

Traitements	TI	TNI	Terre infestée				
	TS		A	TI	TCD	TC	FS
Poids moyen par pot/g	6	5,62	2,62	1,12	0	0	0
PPDS 5 % (1,96)							

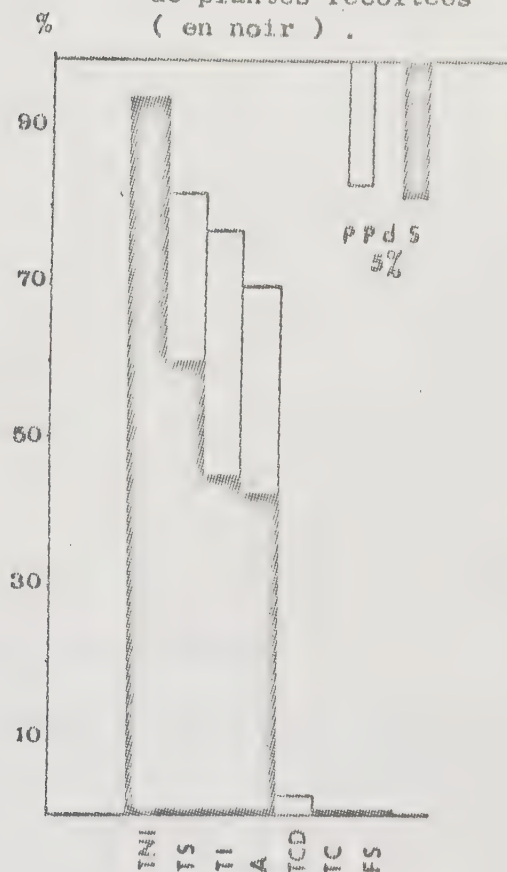
Fig.12 - Influence des substrats incorporés deux mois avant le semis sur les attaques de R. solani (1er semis).

TNI : Terre non infestée
 TI : Terre infestée
 TS : Tourteau de Soja
 A : Farine d'Algue
 TCD : Tourteau de Coton décortiqué
 TC : Tourteau de Coton
 FS : Farine de Soja .

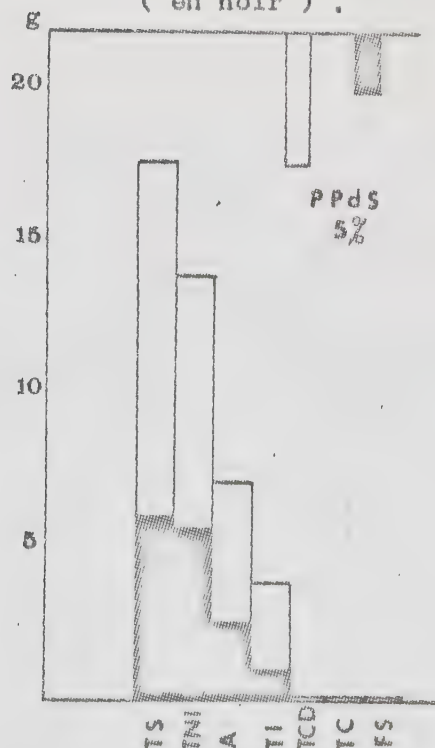
b - Intensité de la maladie .



a - Pourcentage de plantules levées (en blanc) et de plantes récoltées (en noir) .



c - Poids frais en g/ pot des plantes entières (en blanc) et du système racinaire (en noir) .



T A B L E A U 20

Action des différents traitements sur le nombre de plantes récoltées
(moyenne par pot)

Traitements	TNI	Terre infestée					
		TS	TI	A	TCD	TC	FS
Nb moyen de plantes récoltées par pot	4,75	3	2,25	2,12	0	0	0
PPDS 5 % (0,9)							

c) - Résultats du deuxième semis : arrière effet.

Quatre mois après l'incorporation des substrats, nous avons procédé à un deuxième semis qui se situe juste après l'arrachage de la première culture. Du point de vue de la levée, les différences entre les traitements ne sont pas significatives, de même que pour l'intensité de la maladie. Cependant, le nombre des plantules récoltées et le poids frais de ces plantules (poids total et poids des racines) permet de différencier les traitements entre eux dans les tableaux suivants.

T A B L E A U 21

Effet des traitements sur le pourcentage des plantules récoltées, et le poids frais des plantules (total (*) et des racines).

Traitements	% de plantules récoltées	Poids frais en g	
		des plantules pour 8 pots	des racines pour 8 pots
TNI	85	125	36
TI + TCD	60	104	22
TI + FS	57,5	104	22
TI + TC	52,5	103	19
TI + TS	45	90	14
TI + A	40	58	16
TI -	35	22	6

(*) - Total de 8 répétitions.

Planche n° 7

Action comparée de substrats sur les fontès de semis du Coton
provoquées par R. solani.

- 1 - Action de la farine d'Algues (A) comparée au Témoin
infesté (TI) et non infesté (TNI) par R. solani.
- 2 - Action du Tourteau de Soja cru (TS)
- 3 - Action du Tourteau de Coton (TC), Tourteau de Coton décortiqué
(TCD) et de farine de Soja (FS).
- 4 - Etat des plantules à la récolte pour les traitements A, TS,
comparés au TI et TNI.

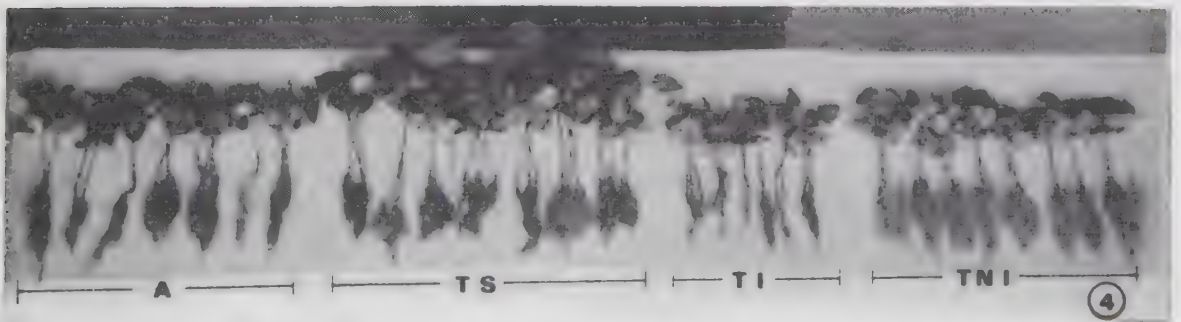


TABLEAU 22

Action des traitements sur le nombre de plantules récoltées (*).

Traitements	Terre infestée						
	TNI	TCD	FS	TC	TS	A	TI
Nombre moyen par pot	4,25	3	2,87	2,62	2,25	2	1,75
PPDS 5 % (1,17)							

(*) - Moyenne de 8 répétitions.

TABLEAU 23

Action des traitements sur le poids frais des plantules (*).

Traitements	Terre infestée						
	TNI	TCD	FS	TC	TS	A	TI
Poids moyen par pot/g	15,62	13	13	12,87	11,25	7,25	2,75
PPDS 5 % (4,16)							

(*) - Moyenne de 8 répétitions.

TABLEAU 24

Action des traitements sur le poids frais des racines (*).

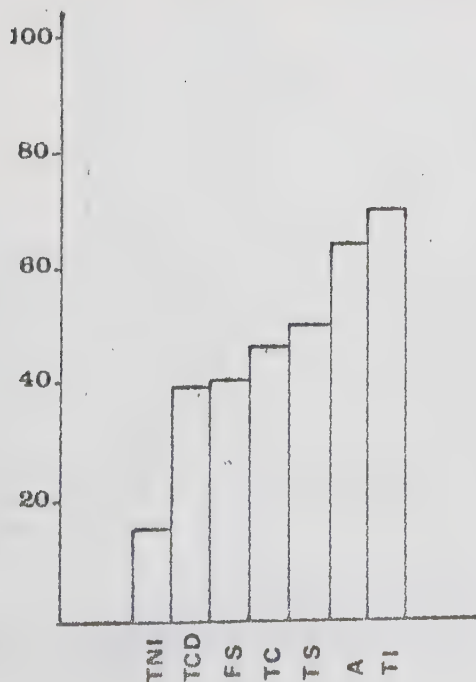
Traitements	Terre infestée						
	TNI	TCD	FS	TC	A	TS	TI
Poids moyen par pot/g	4,5	2,75	2,75	2,37	2	1,75	0,75
PPDS 5 % (0,26)							

(*) - Moyenne de 8 répétitions.

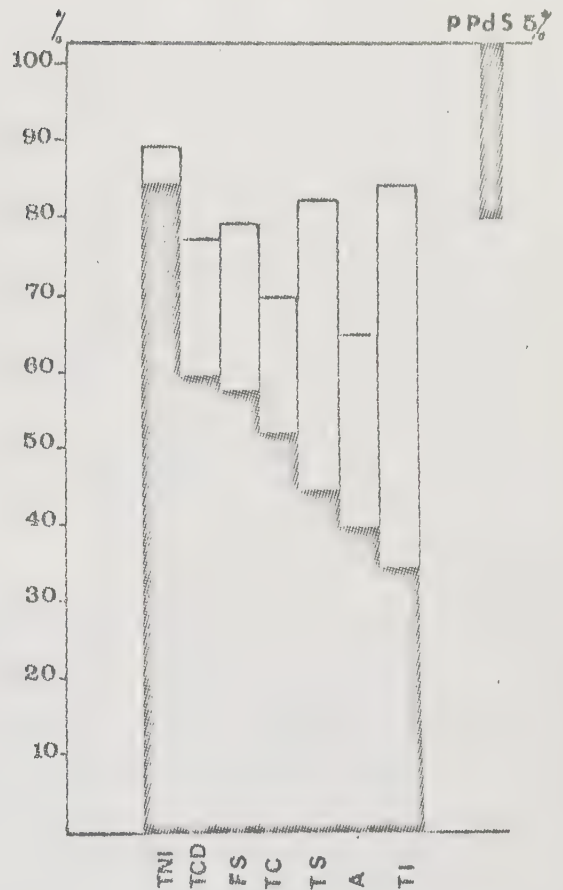
Fig. 13- Arrière-effet de substrats incorporés deux mois avant le 1er semis sur les attaques de R. solani (2ème semis).

TNI : Terre non infestée
 TI : Terre infestée
 TS : Tourteau de Soja
 A : Farine d'Algue
 TCD : Tourteaux de Coton décortiqué
 TC : Tourteaux de Coton
 FS : Farine de Soja .

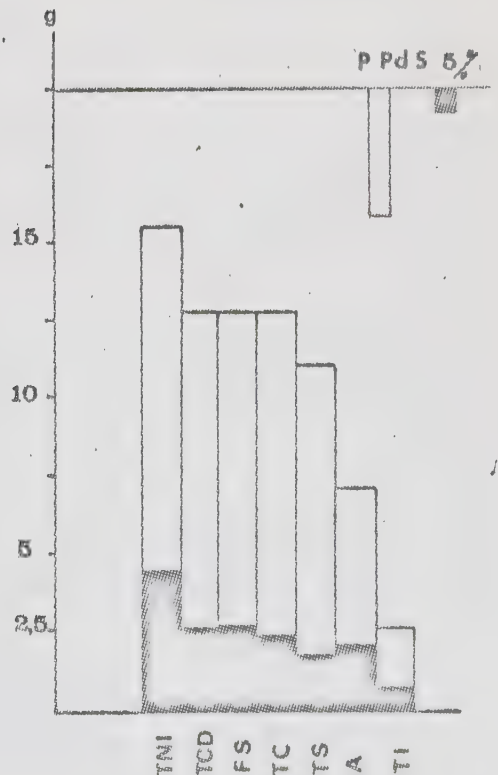
b - Intensité de la maladie .



a - Pourcentage de plantules levées (en blanc) et de plantes récoltées (en noir) .



c - Poids frais en g/pot des plantes entières (en blanc) et du système racinaire (en noir) .



d) - Discussion.

L'examen de ces résultats montre que lors du premier semis, le tourteau de Soja a permis de réduire nettement les attaques de R. solani. Compte tenu du délai respecté (2 mois) entre les incorporations et le semis, ce résultat paraît en accord avec le premier essai. Il semblerait toutefois que dans ces conditions expérimentales il ne faille pas dépasser le délai de 2 mois. Par contre, les autres substrats, protéiniques en particulier, ont eu une action très néfaste qui s'est traduit par d'importantes fontes de pré-émergence.

Il semblerait donc que les substrats protéiniques n'aient pas tous le même effet. En fait ces substances sont assez complexes et il faudrait pouvoir déceler la fraction active.

On peut remarquer qu'au bout de 2 mois d'incubation, les substrats protéiniques ont provoqué une certaine baisse de pH des terres qui ne semble toutefois pas suffisante pour expliquer les résultats puisque ceux-ci sont différents selon les cas, confirmant les résultats de DAVEY et PAPAIVIZAS (1960).

Lors du deuxième semis les résultats obtenus sont assez différents des précédents. Les tourteaux de Coton (TC et TCD) et la farine de Soja (FS) se montrent supérieures au tourteau de Soja (TS). Deux hypothèses peuvent être formulées pour tenter d'expliquer ces résultats :

- d'une part, que l'effet sur la microflore du tourteau de Soja (dont l'incorporation remonte à 4 mois) semble être sur le déclin ce qui permet au parasite une certaine reprise d'activité.
- d'autre part, au cours de la première culture, l'inoculum a pu se multiplier en présence des plantes qui ont pu pousser grâce à ce traitement alors qu'avec les autres substrats les plantules ont été totalement détruites dès la germination.

Soulignons aussi que les conditions lors de la deuxième culture (juin-juillet) n'étaient pas très favorables et les températures très élevées enregistrées dans la serre ont pu perturber les résultats.

Par ailleurs, en ce qui concerne l'action de la farine d'Algues son action est généralement assez faible et ce traitement se différencie peu du témoin infesté (TI).

Ces résultats, bien qu'imparfaits, laissent supposer que des phénomènes biologiques complexes sont en jeu et que, selon les cas, ils s'expriment

plus ou moins nettement. Il nous a paru indispensable de tenter d'expliquer par quels mécanismes certains substrats protéiniques pouvaient conduire à une réduction d'activité de R. solani.

C - RECHERCHES SUR LE MODE D'ACTION DES SUBSTRATS.

1 - Recherche d'antagonismes au niveau de la microflore globale du sol.

Lors de l'essai précédent, des échantillons de 1 kg de terre, ont été prélevés deux mois après l'incorporation des substrats, dans le but de mettre en évidence au sein de la microflore des phénomènes d'antagonismes vis-à-vis de R. solani.

Nous avons procédé de la manière suivante :

- à chaque échantillon de sol, on ajoute 1 l d'eau distillée, on homogénéise le tout et on laisse séjourner à 4° C en agitant de temps en temps; 36 heures après le surnageant est recueilli et filtré. Ces extraits de terre sont alors concentrés par dialyse (les extraits sont mis dans un sac à dialyse en Cellophane et plongés dans un récipient contenant une solution de Polyéthylène Glycol (*) à 20 %). Cette opération est réalisée à 4° C ^{et} au bout de 48 heures, on obtient environ 90 ml d'extrait concentré à partir duquel nous réalisons des tests d'antagonismes in vitro.

- en boîtes de Pétri, sur milieu malt gélosé, une goutte de chaque extrait est déposée à la périphérie des boîtes. Deux jours après, un explantat de R. solani est placé au centre de chaque boîte. Le décalage de deux jours permet aux microorganismes contenus dans les gouttes d'extraits de bien s'installer avant d'être envahis par le parasite.

Dans les jours suivants on note l'action des microorganismes sur le comportement du champignon (zones d'inhibition, formation des sclérotés, etc.). En fait cette technique, qui était expérimentale, ne nous a pas donné les résultats escomptés et aucune action très nette n'a pu être observée.

Par conséquent, nous avons dû imaginer un autre modèle expérimental pour aborder l'étude du mode d'action : des substrats sur le parasite et sur la microflore tellurique.

(*) - CARBOWAX 4 000 U.S.P.

2 - Etude en modèle de l'action des substrats.

a) - Description du modèle expérimental.

Pour étudier l'action des substrats sur R. solani, en présence de terre, nous avons utilisé un modèle expérimental dérivé de celui de MESSIAEN et al. (1965).

Un milieu gélosé (à base d'extrait de malt ou de pomme de terre glucosée) en suspension est réparti à raison de 20 ml par boîte de Pétri. Avant solidification on introduit aseptiquement dans ce milieu, lame porte-objets sur laquelle on dépose 2 ou 3 lamelles de sorte qu'au cours de la solidification une fine pellicule du milieu gélosé se forme lame et lamelles (Cf. détail de la technique p.).

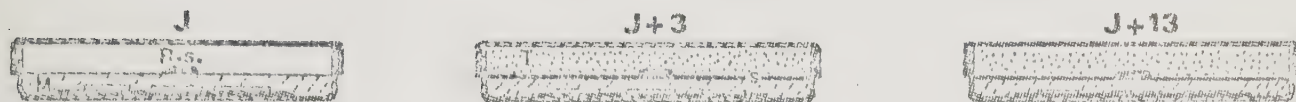
Ces lames permettront par la suite des observations microscopiques et analyses microbiologiques. Les boîtes sont ensuite ensemencées par un explantat de R. solani de 4 mm de diamètre. Après 2 à 3 jours de croissance du champignon, une mince couche du substrat finement broyé est répartie sur toute la surface de la boîte. Celle-ci est ensuite remplie avec 75 g de terre tamisée convenablement humidifiée, stérilisée ou non suivant les cas. Les boîtes ainsi préparées sont incubées à la température du laboratoire (25° C environ).

Dans les jours qui suivent différentes opérations sont effectuées. Des notations directes permettent d'apprécier la croissance et la formation des sclérotés du champignon. Les lames, sur lesquelles le champignon s'est développé sont prélevées au bout de 10 jours d'incubation et leur observation au microscope permet d'avoir des indications sur l'état de mycélium, la formation des cellules en tonnelet, la formation de sclérotés, la présence de microorganismes. A partir de ces lames, prélevées aseptiquement, on peut également chercher à connaître la nature et l'abondance des microorganismes observés.

A la fin de la période d'incubation de 10 jours, un échantillon de terre représentatif de chaque traitement est prélevé en vue d'analyses microbiologiques. Le contenu entier des boîtes (terre, substrat, champignon, gélose) de chaque traitement est alors rassemblé soigneusement homogénéisé, puis mélangé à de la terre "saine" (non infestée) à trois concentrations différentes. Des graines de Coton sont semées dans ces mélanges, répartis en 4 ou 5 pots de 8 cm de diamètre, de manière à apprécier l'influence des "traitements" sur le pouvoir infectieux du champignon.

La figure 14 résume l'ensemble de ces opérations.

Fig.14 - Schéma du modèle expérimental utilisé pour étudier l'action des substrats :



1 - Préparation du milieu gélosé (M) avec lames et lamelles incorporées.

J₁

2 - Mise en culture de R.solani (R.s.) sur ce milieu gélosé .

J+3

3 - Application de substrats (s) et de la terre (T).

J+3

4 - Observation du comportement du champignon à l'oeil nu

à

J+13

et à la loupe .

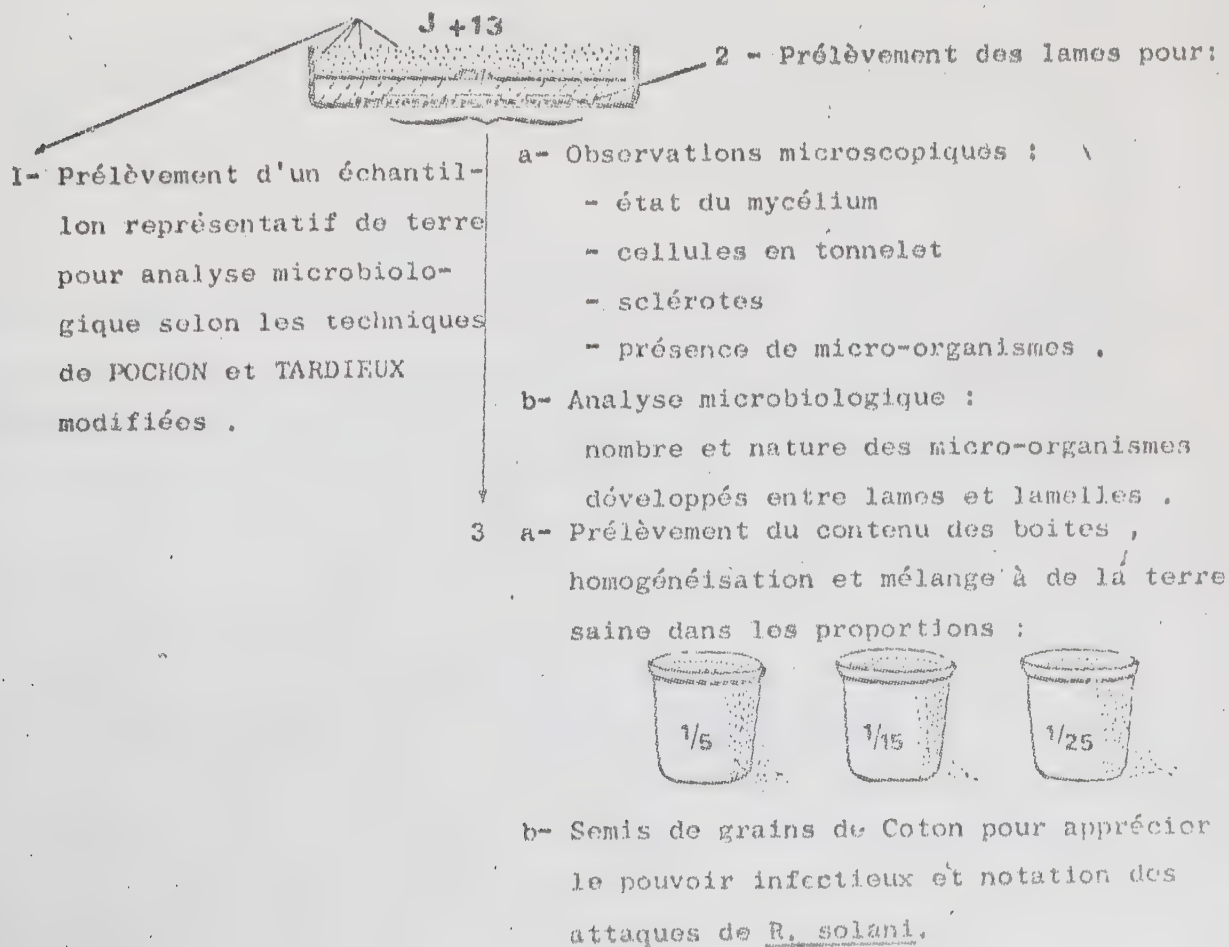
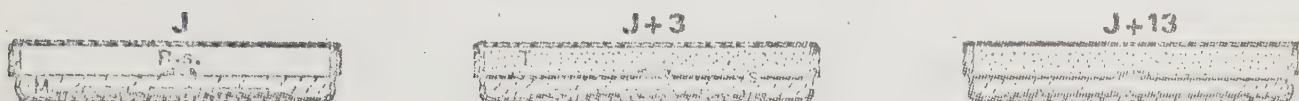


Fig. 14 - Schéma du modèle expérimental utilisé pour étudier l'action des substrats .



1 - Préparation du milieu gélosé (M) avec lames et lamelles incorporées.

J:

2 - Mise en culture de R. solani (R.s.) sur ce milieu gélosé .

J+3

: Application de substrats (s) et de la terre (T).

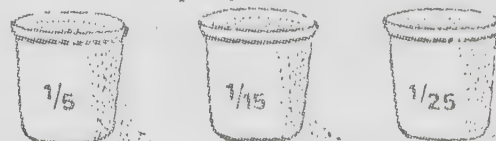
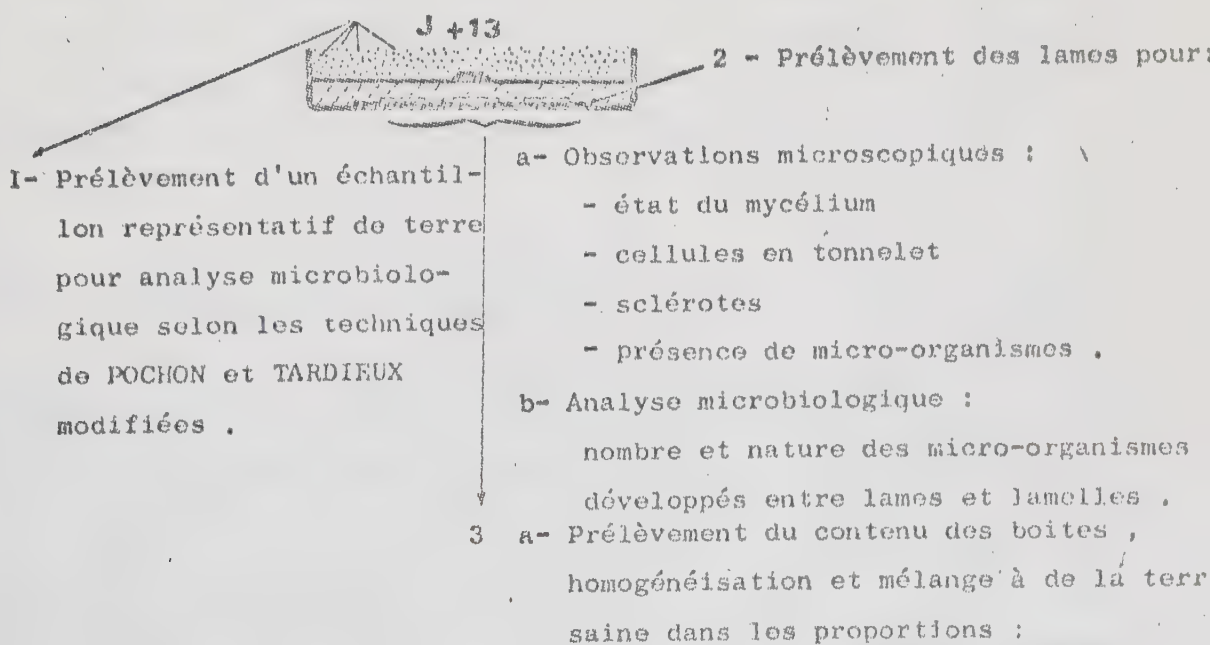
J+3

: Observation du comportement du champignon à l'oeil nu

à

J+13

et à la loupe .



b- Semis de grains de Coton pour apprécier le pouvoir infectieux et notation des attaques de R. solani.

b) - Premier essai.

1 - Dispositif expérimental.

Dans un premier essai, les traitements suivants ont été mis en comparaison, à raison de 5 boîtes de Pétri de chaque cas, qui ont été incubées à la température du laboratoire :

- 1 - culture avec R. solani - sans substrats (témoin (TI))
- 2 - culture de R. solani + tourteau de Soja (TS)
- 3 - culture de R. solani + tourteau de Coton décortiqué (TCD)
- 4 - culture de R. solani + farine d'Algue (A)

La terre stérilisée qui a servi à remplir les boîtes était la même dans tous les cas.

Différentes observations ont pu être faites :

2 - Notations.

- Formation de sclérotès dans les boîtes.

En l'absence de technique précise pour évaluer quantitativement la formation des sclérotès dans les boîtes une estimation de leur abondance sur le fond, le bord et le couvercle des boîtes a été faite. Elle est résumée dans le tableau 25 qui montre que le tourteau de Soja a fortement inhibé la formation des sclérotès, tandis que le tourteau de Coton semble l'avoir stimulée. L'action de la farine d'Algue semble très faible mais les observations étaient assez difficiles étant donné la couleur foncée de ce substrat.

T A B L E A U 25

Influence des substrats sur la formation des sclérotès en boîtes de Pétri.

: Traitements :	Formation des sclérotès dans les boîtes :		
	sur le fond	sur le bord	sur le couvercle
: TI + O :	: ++ :	: + :	: + :
: TI + TS :	: 0 :	: 0 :	: traces :
: TI + TCD :	: +++ :	: +++ :	: ++ :
: TI + A :	: ? :	: + :	: traces :

0 - formation nulle, + sclérotès en nombre limité
 ++ - sclérotès assez abondants +++ sclérotès très abondants.

- Observation microscopique des lames.

L'observation microscopique des lames a permis de constater selon les substrats utilisés, d'importantes différences dans l'état du mycélium, la formation des cellules en tonnelet et des sclérotas, la présence d'autres microorganismes. Ces observations sont résumées dans le tableau 26.

T A B L E A U 26

Résumé des observations microscopiques des "lames pièges".

Traitements	Etat du mycélium (1)	Formation de cellules en tonnelet (2)	Formation des sclérotas (2)	Présence de microorganismes (3)
TI + O	++	++	+	0
TI + TS	0	0	0	+++
TI + TCD	+++	++++	+++	++
TI + A	+	+	traces	0

légende - (1) - 0 mycélium apparemment détruit, + mycélium peu abondant
 ++ mycélium abondant, +++ mycélium très abondant.
 (2) - 0 formation nulle, + faible, ++ moyenne, +++ abondante,
 ++++ formation très abondante.
 (3) - 0 absence de microorganismes, ++ microorganismes abondants,
 +++ microorganismes très abondants.

Parfois la présence de nématodes bactériophages et de A. avenae a pu être notée.

- L'action de la farine d'Algue est assez faible et ce traitement sera abandonné dans l'essai suivant.

- Les effets du tourteau de Soja (TS) et tourteau de Coton décortiqué (TCD) sont totalement opposés. Le premier (TS) conduit à un arrêt de croissance du champignon et les filaments mycéliens que l'on peut observer paraissent morts et en partie lysés.

Dans ces conditions la formation de cellules en tonnelet puis de sclérotas est nulle. On peut également constater, principalement le long des filaments mycéliens ou "hyphes sphères" une abondante prolifération de microorganismes (bactéries ou actinomycètes) (Planche n° 8).

A l'inverse, en présence de tourteau de Coton décortiqué (TCD) le champignon semble très fortement stimulé. Les filaments mycéliens nombreux et en parfait état, donnent naissance à une très abondante formation de cellules en

tonnelet puis de sclérotés (Planche 4). On peut aussi remarquer sur les lames un développement assez abondant de microorganismes mais ceux-ci, contrairement au cas présent, sont dispersés au hasard.

- Les résultats des semis en pots.

Les pots, de différentes dilutions sont ensemencés et les résultats de semis sont comparés avec ceux d'un témoin de terre naturelle (sans substrat et non infesté).

L'appréciation du pouvoir infectieux de R. solani, après ces différents traitements, selon le procédé décrit ci-dessus, conduit à des résultats qui, quelle que soit la "dilution" utilisée (1 volume/1 volume, IV/10 V, et IV/20 V) sont en parfait accord avec les observations sur lames. L'ensemble des résultats **est** regroupé dans le tableau 27 et les figures 15, 16 et 17 et illustrent l'action des substrats sur la levée et le nombre des plantes récoltées (15) sur l'intensité de la maladie (16) et sur le poids frais des plantes récoltées (17).

L'action de la farine d'Algue est faible et globalement ce traitement se différencie peu du témoin infesté. Le tourteau de Coton décortiqué (TCF) a une action particulièrement néfaste, puisque de très fortes attaques (supérieures au témoin) sont observées même à la dilution 1/20 (Planche n° 9).

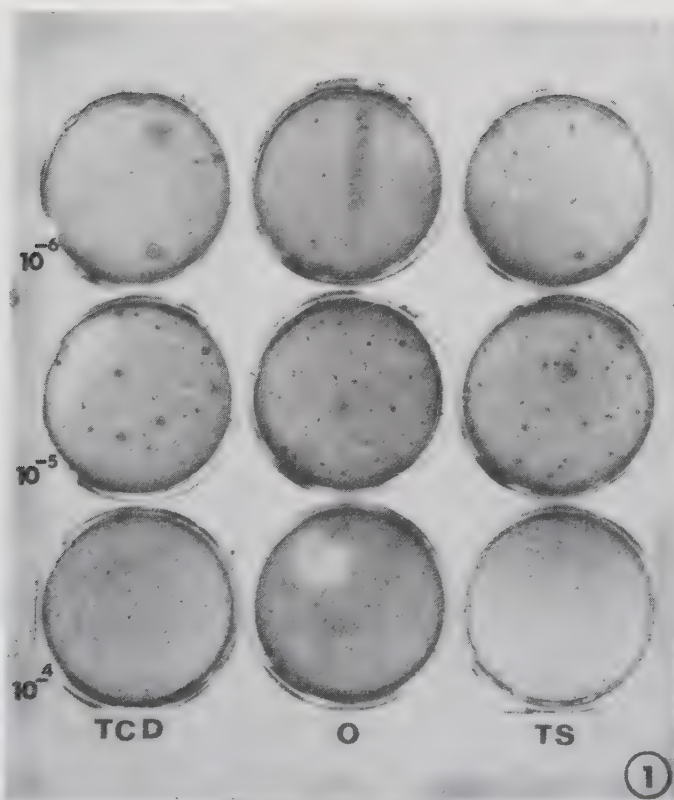
Le tourteau de Soja (TS) au contraire permet de réduire très fortement les attaques de pré-émergence mais surtout de post-émergence et ceci quelle que soit la "dilution" on peut en outre remarquer l'effet "Azote" de ce traitement qui se traduit par une augmentation du poids frais des plantules, particulièrement aux faibles "dilutions" (1/1 ou 1/10).

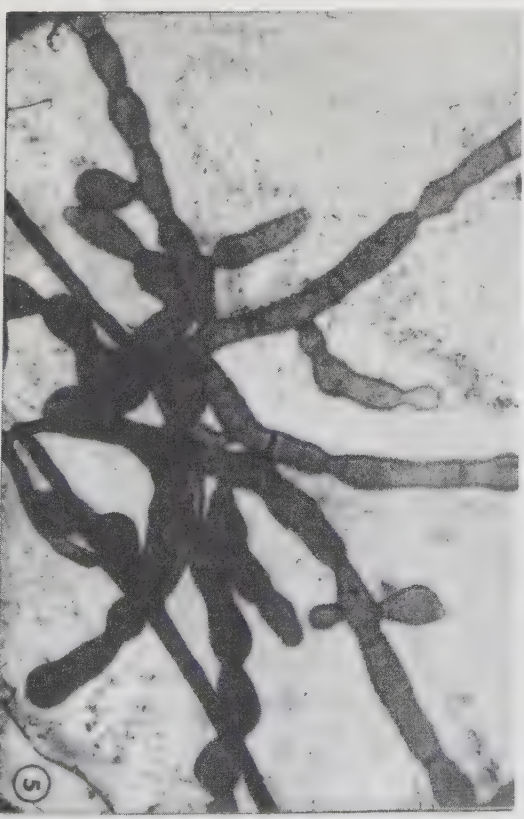
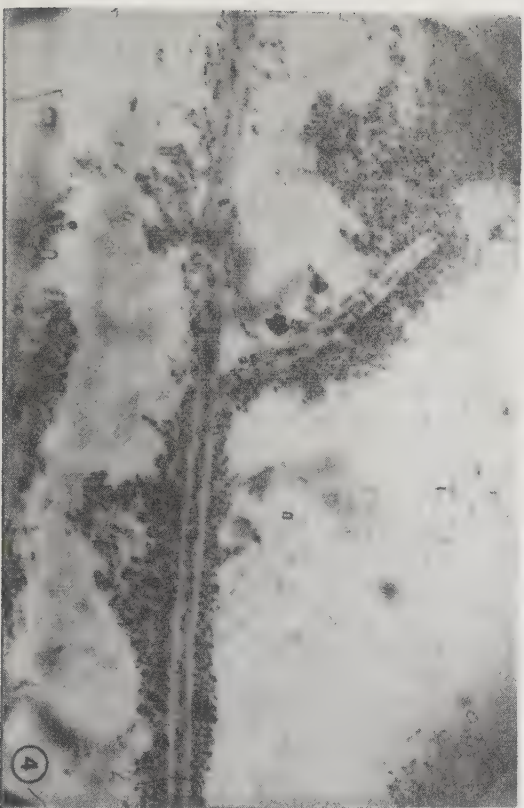
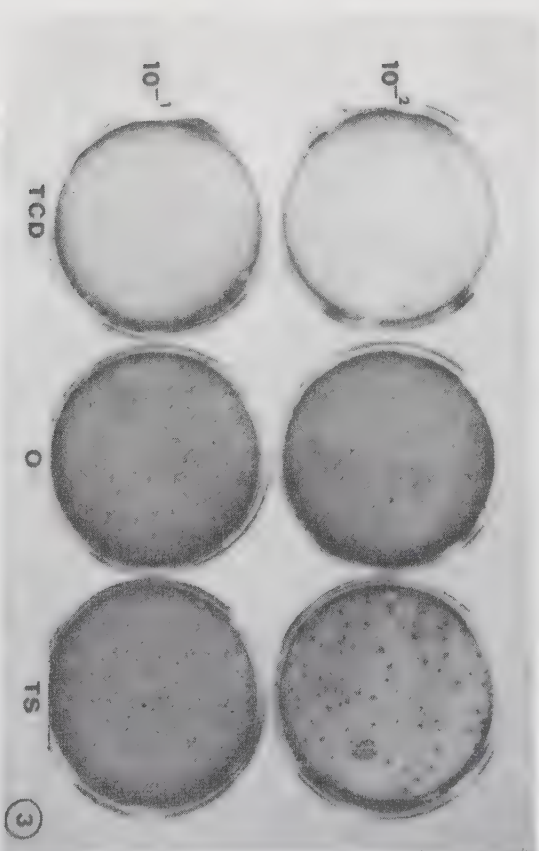
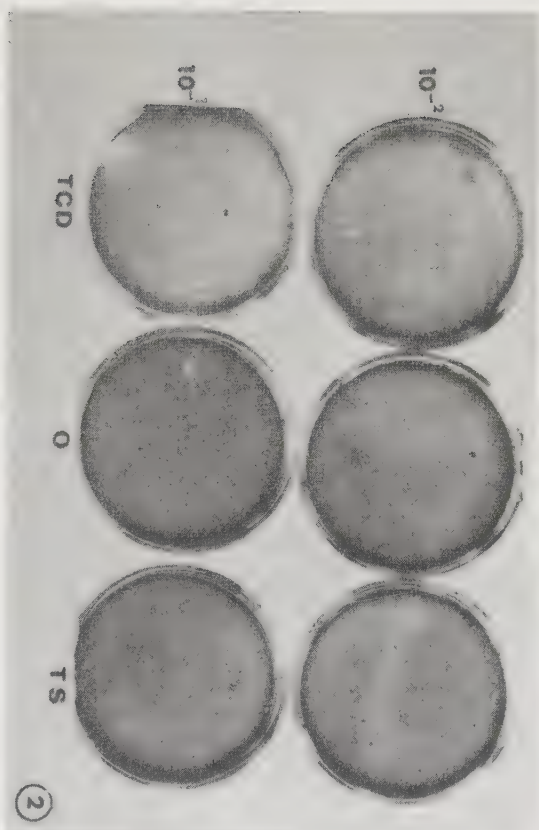
Ce premier essai, qui nous a permis de recueillir quelques indications sur la manière dont le champignon réagit à la présence de quelques substrats, demeure incomplet dans la mesure où on ne sait pas encore de façon précise si la microflore du sol intervient et quelle est la fraction active. Nous allons tenter grâce à l'essai suivant de combler au moins partiellement cette lacune.

Planche n° 8

Influence des substrats appliqués sur les colonies de R. solani en présence de terre stérilisée ou non, sur la prolifération de microorganismes.

1. Action sur les populations d'Actinomycètes dans la terre normale non stérilisée.
- 2 et 3. Action sur les populations d'Actinomycètes sur les lames pièges.
 - en présence de terre stérilisée
 - en présence de terre normale non stérilisée
4. Prolifération intense de microorganismes (Actinomycètes, bactéries) le long des filaments de R. solani, sur les lames-pièges dans le cas du traitement T.S. en présence de terre normale non stérilisée.
5. Prolifération de microorganismes beaucoup moins intense et bien dispersés autour du R. solani sur les lames-pièges dans le cas du traitement de Tourteau de Coton décortiqué en présence de terre normale.





TABEAU 27

Influence des traitements sur les attaques de R. solani . Résultats exprimés en pourcentage , en nombre et en poids en g. moyen pour un semis de 5 graines par pot (4 répétitions)

Notations	Dilutions	Traitements comparés								Analyse statistique				TNI	
		TI + O		TI + TS		TI + TCD		TI + A		F calcul	Sign.	ppds 5 %	O Substrat	n°	%
		n°	%	n°	%	n°	%	n°	%						
Nombre de plantules levées	I/I	3,00	60	4,00	80	2,00	40	2,75	55	1,64	NS	-	4,25	85	
	I/10	3,25	65	4,75	95	0,75	15	3,75	75	11,93	HS	1,53			
	I/20	3,75	75	4,25	85	2,75	55	3,59	70	0,56	NS	-			
Nombre de plantules récoltées	Signification		NS	-	NS	-	NS	NS	-				3,5	70	
	I/I	0,50	10	3,50	70	0	0	0,75	15	11,91	HS	1,43			
	I/10	1,25	25	3,50	70	0	0	1,00	20	13,02	HS	1,29			
	I/20	2,00	40	4,00	80	0,25	5	2,50	50	2,96	NS	-	3,25		
	Signification		NS	-	NS	-	NS	NS	-						
Poids frais des plantules récoltées en g/pot	I/I	0,75		9,25		0		1,00		18,67	HS	3,12	3,25		
	I/10	1,50		5,25		0		1,50		15,07	HS	1,81			
	I/20	3,00		4,75		0,75		2,75		5,97	S	2,5			
Intensité de la maladie (note 0-100)	Signification		NS	NS	NS	NS		NS					28		
	I/I	82		30		92		80		-	-	-			
	I/10	72		25		97		69		-	-	-			
	I/20	62		19		85		47		-	-	-			

* F théorique au seuil

5 % : 3,86

NS - non significatif

1 % : 6,99

S - significatif

Fig. 15- Action des substrats sur le pourcentage de plantules levées (en blanc) et récoltées (en noir) .

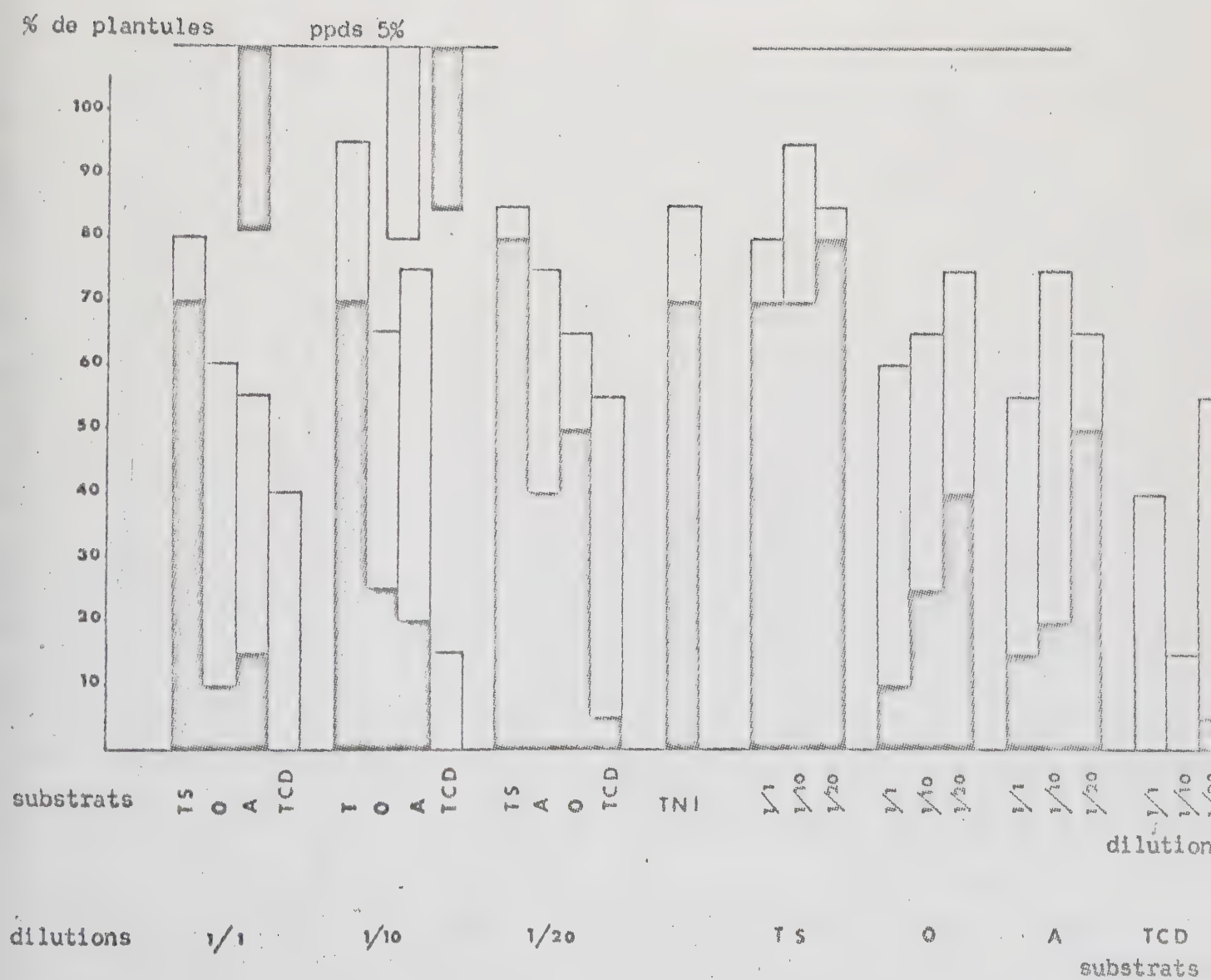


Fig.16 - Action des substrats sur l'intensité de la maladie (note de 0 à 100) .

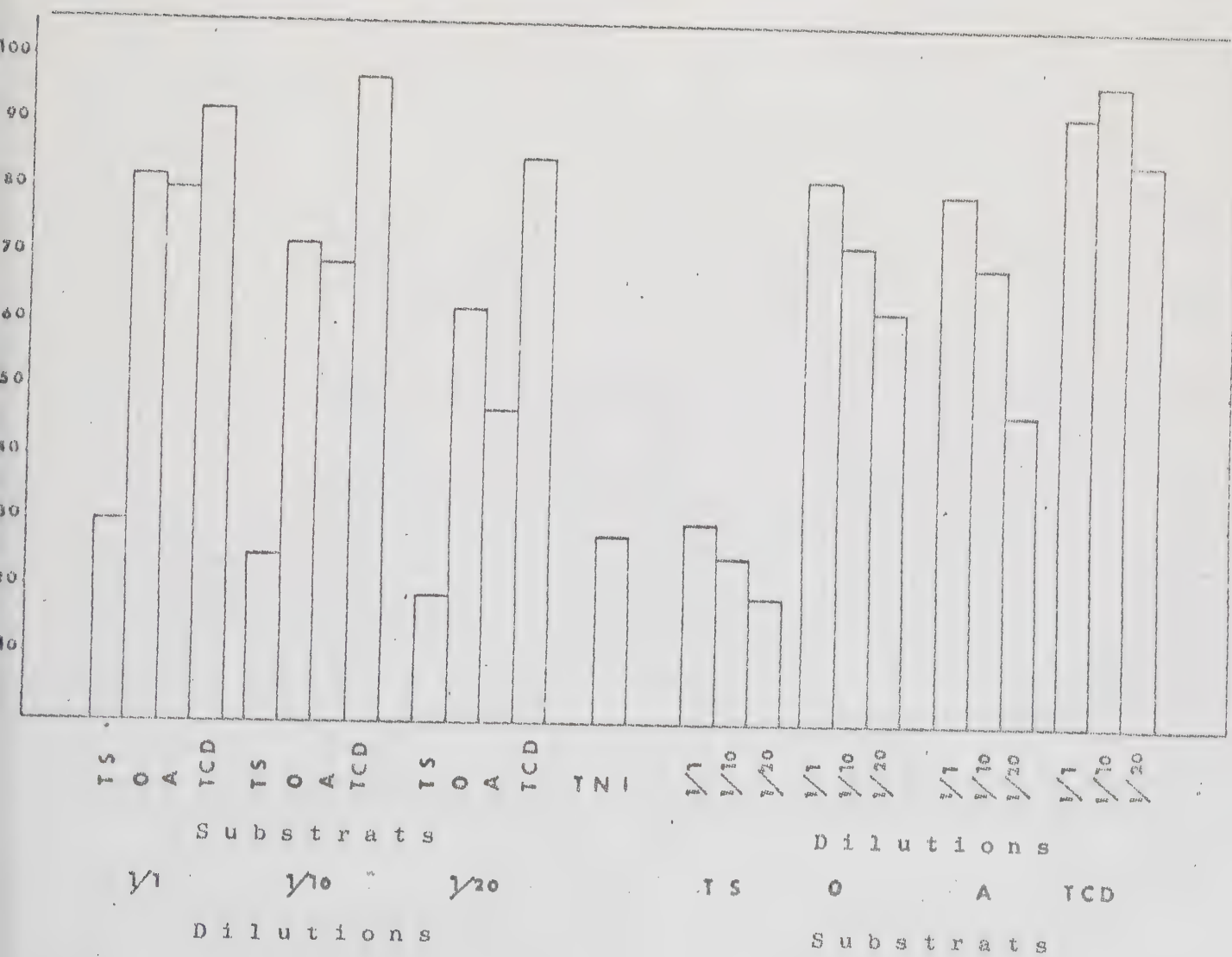


Fig. 17 - Action des substrats sur le poids frais des
plantules récoltées (en gramme par pot).

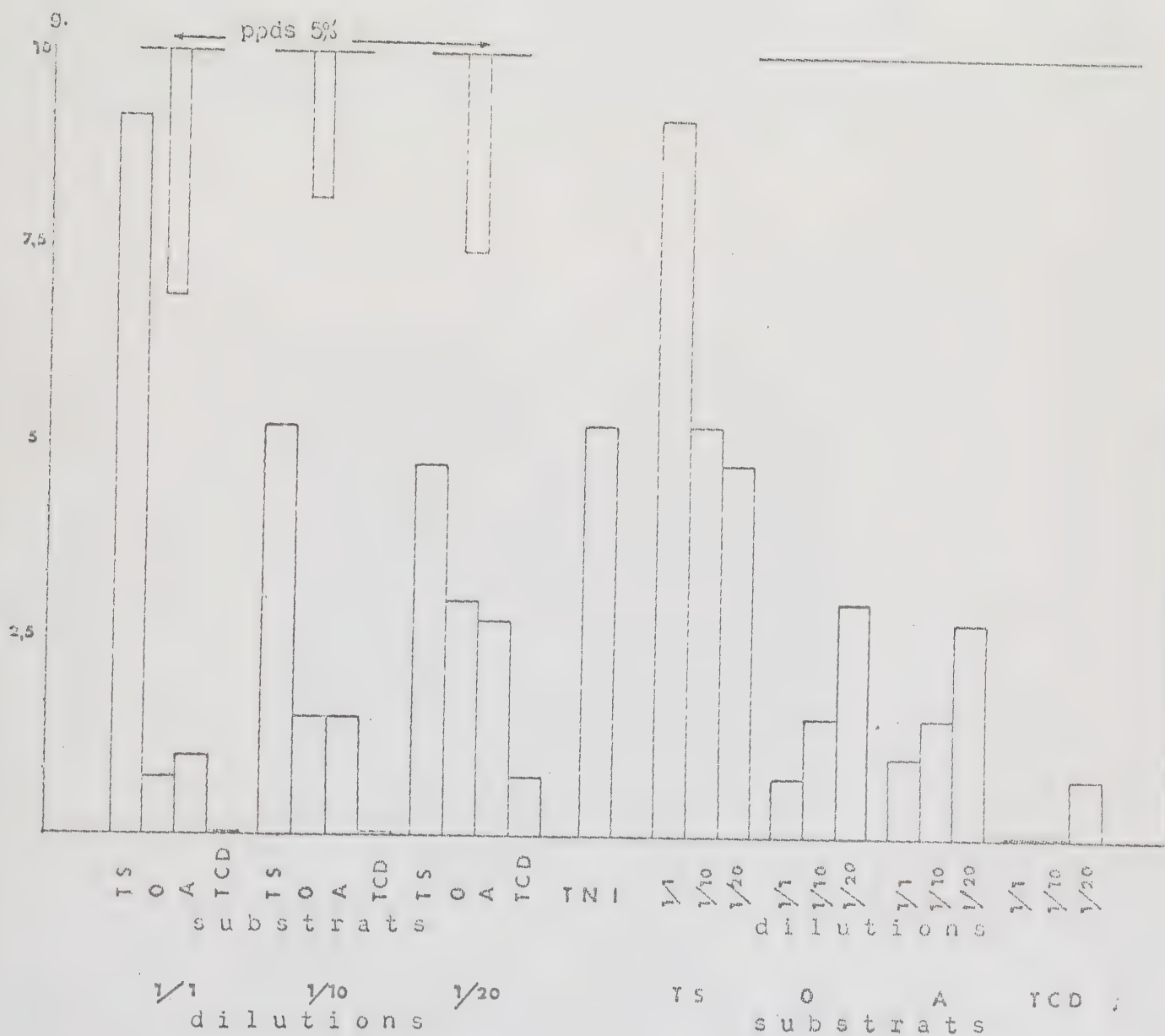


Planche n° 9

Influence de substrats sur le "pouvoir infectieux" ultérieur de R. solani lorsqu'ils sont appliqués directement sur les colonies du champignon en présence de terre normale (1°essai).

1. Vue de l'ensemble de l'essai.

2. Plantules récoltées.

1 : 1, 1 : 10, 1 : 20, "dilutions" de terre utilisées.

TNI : témoin sans R. solani et sans substrat.

TI : R. solani sans substrat.

T de S : R. solani + tourteau de Soja cru.

T de CD : R. solani + tourteau de Coton décortiqué.

A : R. solani + farine d'Algues.



c) - Deuxième essai.

1 - Dispositif expérimental.

Cet essai, réalisé selon le même schéma que précédemment, met en comparaison deux substrats : le tourteau de Soja (TS) et le tourteau de Coton décortiqué (TCD) répartis à la surface de colonies de R. solani âgées de 72 h cultivé sur milieu malt.

Ces traitements sont comparés à 1 témoin sans substrat (TI). Une variante concerne la terre utilisée pour remplir les boîtes de Pétri : pour chaque traitement 5 boîtes sont remplies de terre normale, tandis que 5 autres sont remplies de terre préalablement stérilisée à l'autoclave.

Les traitements suivants ont donc été comparés :

- | | | |
|---|---|--------------------|
| 1. culture de <u>R. solani</u> , sans substrat (Témoin - TI) | } | + terre normale |
| 2. culture de <u>R. solani</u> , + tourteau de Soja (TS) | | |
| 3. culture de <u>R. solani</u> , + tourteau de Coton décortiqué (TCD) | | |
| 4. idem 1 | } | + terre stérilisée |
| 5. idem 2 | | |
| 6. idem 3 | | |

2 - Observations sur le champignon.

Les observations concernant l'état du champignon dans les boîtes, après 10 jours d'incubation rejoignent, dans l'ensemble, celles de l'essai précédent.

L'examen microscopique (tableau 28) des lames, permet également de constater qu'en présence de tourteau de Soja (TS) le mycélium paraît détruit, alors qu'il est vivant et abondant dans les autres cas (TI et TCD). La formation des cellules en tonnelet et sclérotés est particulièrement nulle.

Par contre, dans le cas de terre préalablement stérilisée l'action du tourteau de Soja est fortement réduite ce qui tend à prouver la responsabilité des microorganismes du sol, bien que dans les deux cas une importante prolifération de microorganismes puisse être observée. Cependant c'est seulement en présence de tourteau de Soja (TS) et de terre normale que les microorganismes se multiplient à proximité des hyphes mycéliens en provoquant, semble-t-il leur destruction (Planche n° 9 - Photo 4). Dans les autres cas (terre stérilisée ou tourteau de Coton) la prolifération des microorganismes semble

s'effectuer au hasard sans relation avec la présence des hyphes (Planche n° 9 - Photo 5).

T A B L E A U 28

Résumé des observations microscopiques des "lames-pièges".

NOTATIONS	Terre normale			Terre stérilisée		
	TI + 0	TS	TCD	TI + 0	TS	TCD
Etat général du mycélium (1)	++	0	+++	+++	++	+++
Formation des : (2) - cellules en tonnelot	++	0	+++	+++	+	++
- Sclérotos	+	0	++	++	traces	+
Présence de "microorganismes (3)	0	++	+		+++	

légende - (1) - 0 = mycélium apparemment détruit, + = mycélium peu abondant, ++ = mycélium abondant, +++ = mycélium très abondant.
 (2) - 0 = formation nulle, + = faible, ++ = moyenne, +++ = abondante, +++ = formation très abondante.
 (3) - 0 = absence de microorganismes, ++ = microorganismes abondants, +++ = microorganismes très abondants.

3 - Analyses microbiologiques.

Différentes analyses microbiologiques ont été réalisées, à partir de la terre et des lames-pièges, pour tenter de déceler les microorganismes agissant sur R. solani.

Ces analyses comprennent des ensemencements d'une part en milieux sélectifs préconisés par POCHON et TARDIEUX (1962) pour apprécier l'activité de divers groupements fonctionnels (du cycle du Carbone et de l'Azote notamment), d'autre part en milieux gélosés pour dénombrer les colonies de champignons, bactéries et actinomycètes.

- Activité des groupements fonctionnels.

L'activité des groupements fonctionnels des terres est appréciée selon la méthode de POCHON et TARDIEUX modifiée par l'utilisation d'un appareillage particulier, mis au point au laboratoire de Bactériologie de l'I.N.R.A. de Rennes (voir COLENO (1973) ; KEROMNES (1973) qui permet une automatisation partielle et une miniaturisation. Seules les terres normales, non stérilisées

ont été analysées. A partir d'échantillons représentatifs prélevés dans les boîtes de Pétri, des suspensions-dilutions de 10^{-1} à 10^{-10} sont réalisées. Celles-ci sont ensemencées dans les milieux sélectifs, puis des notations journalières permettent d'apprécier le développement des germes.

Les données ainsi recueillies permettent de tracer les courbes d'activité des divers groupements fonctionnels étudiés (figure 18). Un certain nombre de différences apparaissent, les substrats favorisent certains groupements et défavorisent d'autres (amylolyse notamment), l'équilibre microbien du sol est donc modifié mais ces résultats ne permettent toutefois pas de déceler le groupe de microorganismes susceptible d'agir sur R. solani.

- Résultats des analyses sur milieux gélosés.

Trois milieux gélosés convenant bien aux champignons (extrait de malt), aux actinomycètes (Chitine) et aux bactéries (gélose numération GN) (voir composition en annexe) sont utilisés mais dans la mesure du possible de dénombrement des trois catégories de microorganismes est réalisé sur ces trois milieux. Les analyses ont porté sur la terre ajoutée dans les boîtes et sur les "lanes-pièges".

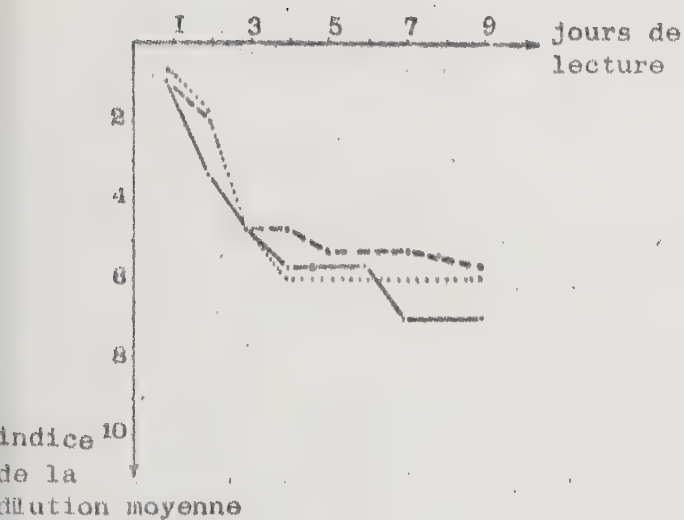
. Microflore des terres.

Seules, les terres normales non stérilisées ont été analysées. Certaines des suspensions-dilutions de terre (10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6}) servent à ensemencer les milieux gélosés maintenus en surfusion à 40° C qui sont ensuite répartis en boîtes de Pétri. Après 10 jours d'incubation, environ, à la température ambiante, les colonies fongiques actinomycétales et bactériennes sont dénombrées, ce qui permet d'estimer le nombre de microorganismes par gramme de terre ensemencée.

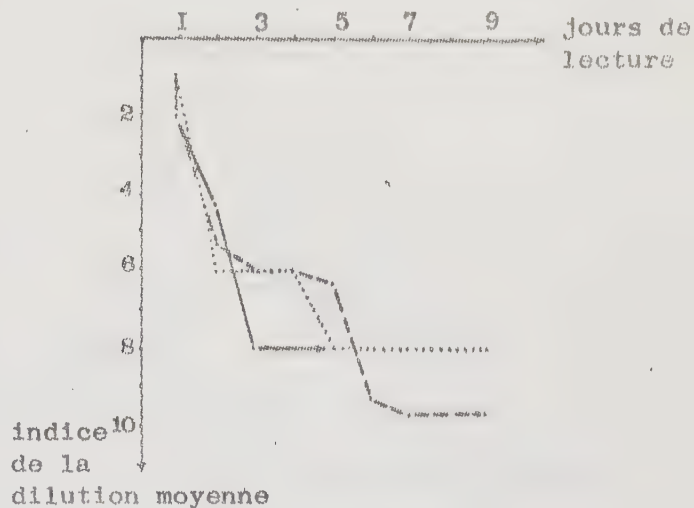
Les résultats de ces notations qui figurent dans le tableau 29 montrent que seul le tourteau de Soja (TS) a une action profonde sur la microflore du sol qui se traduit par une réduction du nombre de champignons, une certaine augmentation des actinomycètes et surtout une très forte multiplication des bactéries (figure 20).

A l'inverse, le tourteau de Coton (TCD) semble n'avoir qu'une influence très faible. D'autre part, un certain nombre de colonies de R. solani ont été isolées laissant supposer une action favorisante du traitement sur ce parasite.

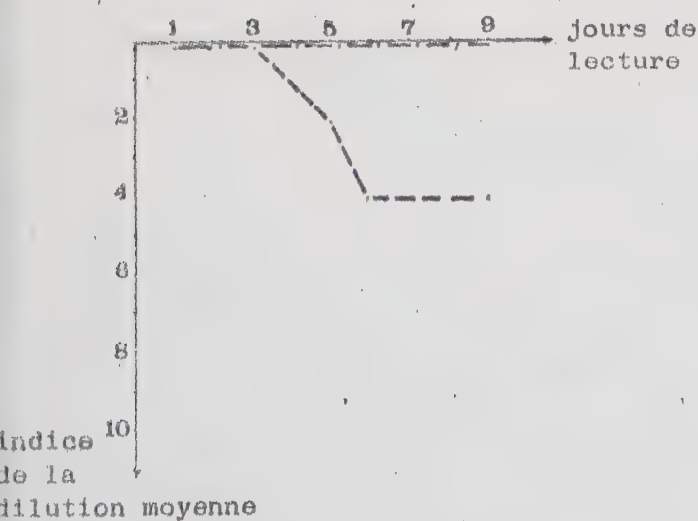
Fig. 18 - Influence des substrats Tourteaux de Soja (TS) et tourteaux de Coton décortiqué (TCD) sur l'activité de quelques groupements fonctionnels du cycle de l'Azote et du cycle du Carbone .



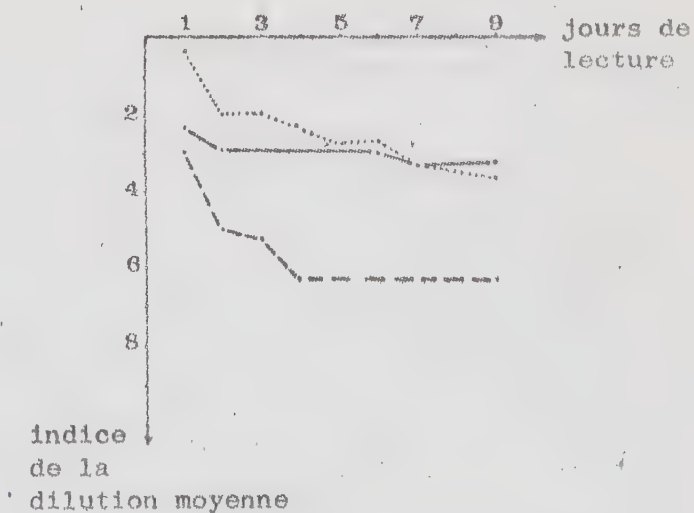
(1) PROTEOLYSE



(2) AMMONIFICATION



(3) NITRIFICATION



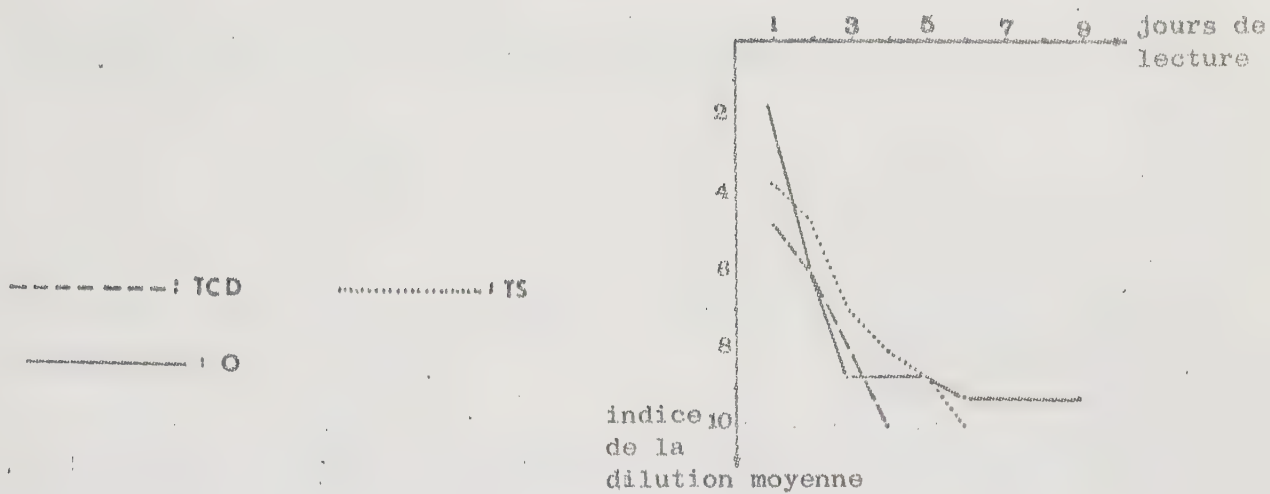
(4) DENITRIFICATION

----- TCD

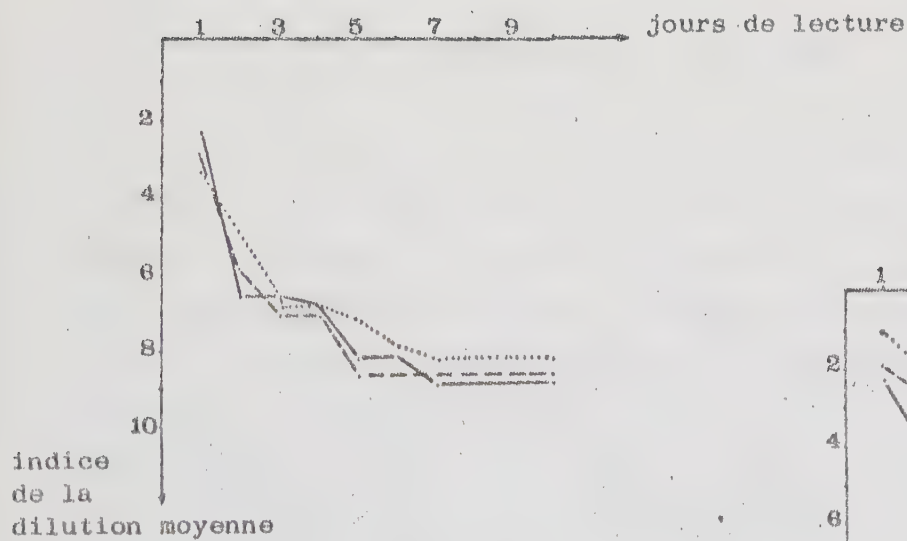
..... TS

————— O

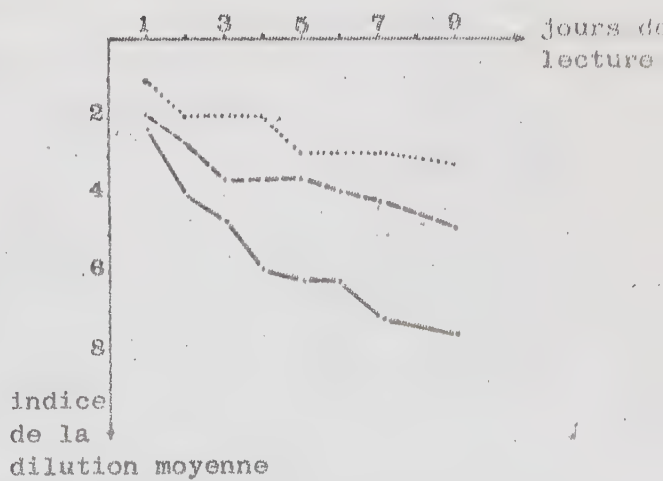
Fig.18 - Suite .



(5) CELLULOLYSE ANAEROBIE



(6) PECTINOLYSE



(7) AMYIOLYSE

TABLEAU 29

Action des tourteaux de Soja (TS) et de Coton (TCD) sur la microflore des terres.
(Résultats exprimés en nombre de colonies développées pour un gramme de terre ensemencé).

Traitements		T	TS	TCD
		$\times 10^5$	$\times 10^5$	$\times 10^5$
Cryptogames				
Champignons sur :				
	malt	8	2	6
	chitine	3	0	0
	G.N.	5	0	6
<u>R. solani</u> sur :				
	malt	0	0	0,025
Bactéries sur :				
	G.N.	606	3022	362
	chitine	447	2192	309
Actinonycètes sur :				
	chitine	120	193	168

. Microflore des lames-pièges.

L'observation microscopique de certaines "lames-pièges" a permis de constater dans certains cas, une importante prolifération de microorganismes condensés le long des hyphes mycéliens (photo 4 - Planche 9) et nous avons tenté d'en connaître la nature en utilisant les mêmes techniques que précédemment. Pour cela, deux lames-pièges sont prélevées aseptiquement dans les boîtes correspondant à chaque traitement, et portées dans 90 ml d'eau stérile. Après avoir déplacé les lamelles, on homogénéise le mieux possible de manière à mettre les microorganismes en suspension. A partir de cette première dilution, (dénommée par similitude dilution 10^{-1}), une série de dilutions est réalisée jusqu'à 10^{-6} . Les ensemencements sont ensuite effectués sur les trois milieux gélosés précédemment utilisés.

Après incubation, on opère un comptage des colonies développées. Les résultats sont regroupés dans le tableau 30.

Ils confirment en partie les données précédentes mais s'en différencient cependant par certains aspects qui laisseraient supposer que l'action des substrats n'est pas la même selon que l'on considère globalement le sol ou seulement les zones à proximité des filaments mycéliens ("hypho sphère").

T A B L E A U 30

Influence des traitements sur la microflore des "lames-pièges".
 Résultats exprimés en nombre de colonies pour 1 ml
 de la suspension - 10^{-1} .

		Terre normale			Terre stérilisée		
		TO	TS	TCD	TO	TS	TCD
Nombre de colonies de champignons	milieu "malt"	30	5	760	320	150	740
	milieu "chitine"	1340	55	810	29	30	245
	total	1370	60	1570	349	180	985
dont							
<u>R. solani</u>	milieu "malt"	0	0	115	160	70	0
	milieu "chitine"	0	0	20	185	30	30
	total	0	0	135	345	100	30
Nombre de colonies bactériennes x 10^3	milieu G.N.	536	6665	4787	1733	2736	3731
Nombre de colonies d'actinomycètes	milieu "chitine"	190	35480	320	0	145	50

C'est au niveau de la flore actinomycétale que les deux substrats se différencient le plus nettement (figure 19). Le tourteau de Coton (TCD) a peu d'action alors que le tourteau de Soja (TS) la stimule fortement.

Ces colonies d'actinomycètes d'aspect très homogène, appartiennent au genre Streptomyces et probablement en grande partie à la même espèce bien qu'une détermination précise n'ait pas été réalisée.

Il convient par ailleurs de remarquer, qu'en terre initialement stérilisée la recolonisation fongique et bactérienne est rapide alors que le nombre d'actinomycètes reste très faible même en présence de tourteau de Soja (TS).

Ces résultats semblent indiquer que la flore actinomycétale doit jouer un rôle très important sur les parasites fongiques du sol et sur R. solani en particulier.

4 - Pouvoir infectieux des terres.

Après dix jours d'incubation, le contenu des boîtes de Pétri (terre + substrat + R. solani) correspondant à chaque traitement est repris, homogénéisé et "dilué" avec 5, 15 et 25 volumes de terre saine (dilutions 1/5, 1/15, 1/25).

Les "dilutions" ainsi obtenues ainsi que la terre saine (témoin non inoculé : THI) sont réparties en 5 pots dans chacun desquels on sème 5 graines de coton.

Les résultats qui ont porté sur le nombre de plantules levées et récoltées sur le poids frais de la récolte, sur l'intensité des attaques de R. solani, figurent dans le tableau 31 et les figures 21, 22 et 23.

Ces résultats concernent uniquement la terre normale, car dans les cas de terre initialement stérilisée, la levée du Coton a été nulle, du fait de la destruction totale des graines avant la levée par R. solani (Pl. 10-2).

Les résultats relatifs à la terre normale montrent une action très différente des deux substrats.

Dans le cas du tourteau de Soja, on obtient quelle que soit la "dilution" des résultats comparables au témoin non inoculé (THI) ce qui laisse supposer que le taux d'inoculum était bas même à la dilution 1/5. Ce résultat laisse donc supposer une importante destruction du champignon et confirme les observations précédemment réalisées.

A l'inverse le tourteau de Coton décortiqué (TCD) semble avoir augmenté dans proportions considérables le taux d'inoculum puisque dans tous les cas on enregistre la destruction de la totalité des graines avant la levée.

5 - Conclusion.

Ces résultats dans leur ensemble présentent un intérêt certain puisqu'ils nous permettent, d'une part, d'améliorer nos connaissances, sur les mécanismes biologiques en jeu, d'autre part de montrer l'intérêt du tourteau de Soja dont l'utilisation pratique pourrait être envisagée moyennant des essais complémentaires au champ.

Cependant, la comparaison de deux substrats riches en "protéines" (tourteau de Soja et tourteau de Coton) conduisant à des résultats totalement opposés, souligne la complexité du problème et laisse supposer que des éléments constitutifs (autres que les protéines) agissent sur la microflore du sol et par leur intermédiaire sur les parasites.

TABLEAU N° 31

Influence des substrats sur les attaques de R. solani .

Résultats exprimés en nombre de plantules récoltées , en pourcentage
et en poids moyen en g pour un semis de 5 graines par pot (5 répétitions).

Notations	dilutions	Traitements comparés						Analyse statistique			TNI	
		TI		TI + TS		TI + TCD		F [±] calculé	Signif.	PPDS 5 %	Nbre	%
		Nbre.	%	Nbre	%	Nbre	%					
Nb de plantules levées	I/5	0	0	4,4	88	0	0	53,78	H.S.	I,1	3,2	
	I/15	2	40	4,2	84	0	0	20,82	H.S.	I,46		
	I/25	4	80	3,8	76	0	0	45,35	H.S.	I,07		
	Signif.	H.S.	-	N.S.	-	N.S.	-					
Nb de plantules récoltées	I/5	0	0	3	60	0	0	12,93	H.S.	I,56	3,2	
	I/15	0,6	12	3,4	68	0	0	9,63	H.S.	I,89		
	I/25	3,00	60	3,6	72	0	0	11,62	H.S.	I,82		
	Signif.	S.	-	N.S.	-	N.S.	-					
Poids frais des plantules récoltées en g/pot	I/5	0		5,6		0		9,07	H.S.	3,48	4,2	
	I/15	1,00		6,4		0		10,91	H.S.	3,39		
	I/25	4,00		6,6		0		16,11	H.S.	2,67		
	Signif.	S		N.S.		N.S.						
Densité de la maladie (note 0-100)	I/5	100		50		100		-			37	
	I/15	87		41		100						
	I/25	42		29		100						

* F théorique au seuil 5 % = 4,46
1 % = 8,65

N.S. Non significatif

S. Significatif au seuil 5 %

H.S. Significatif au seuil 1 %

Fig. 21 - Action des substrats sur le pourcentage de plantules levées (en blanc) et récoltées (en noir) .

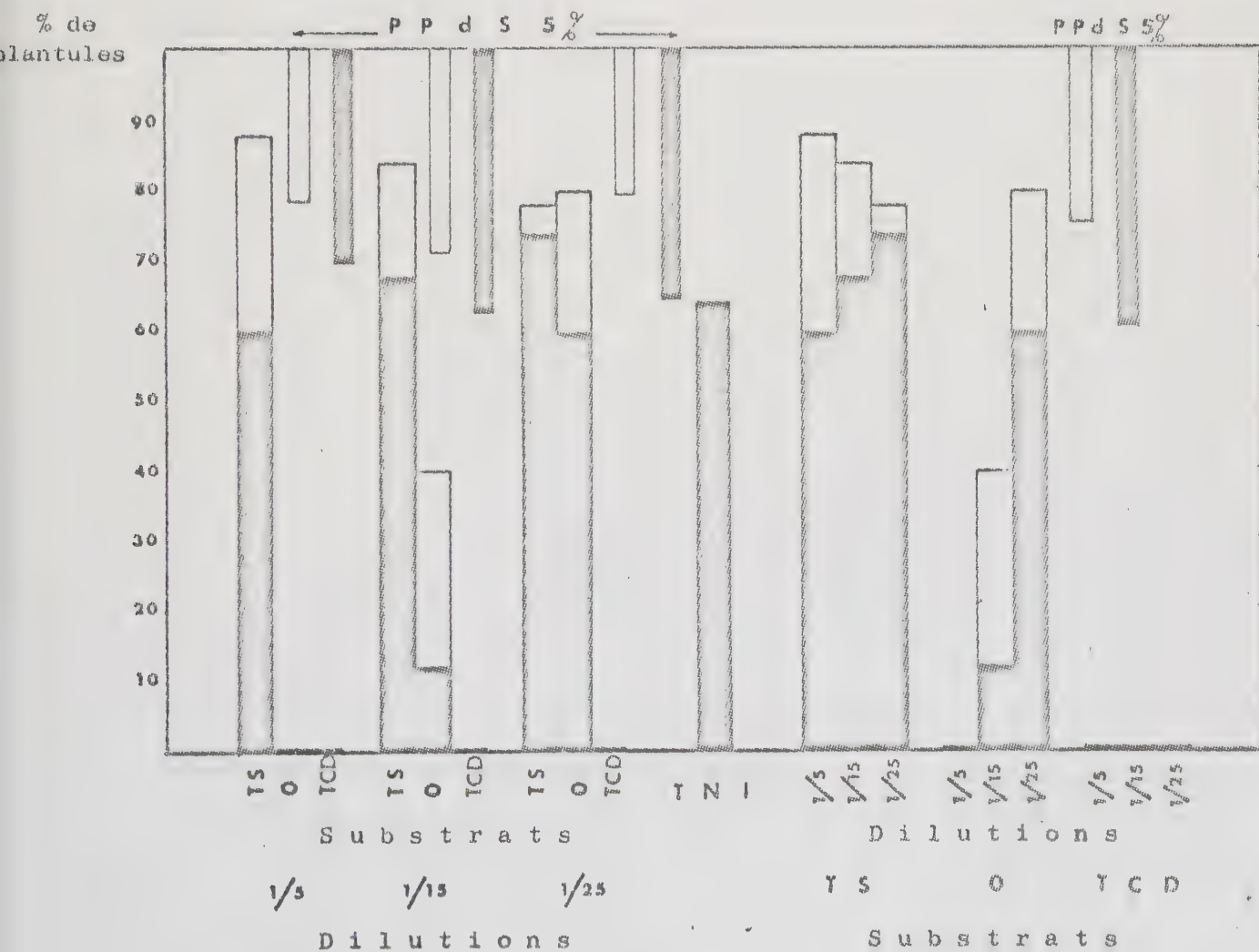


Fig.22. - Action des substrats sur le poids frais des plantules récoltées (en gramme par pot).

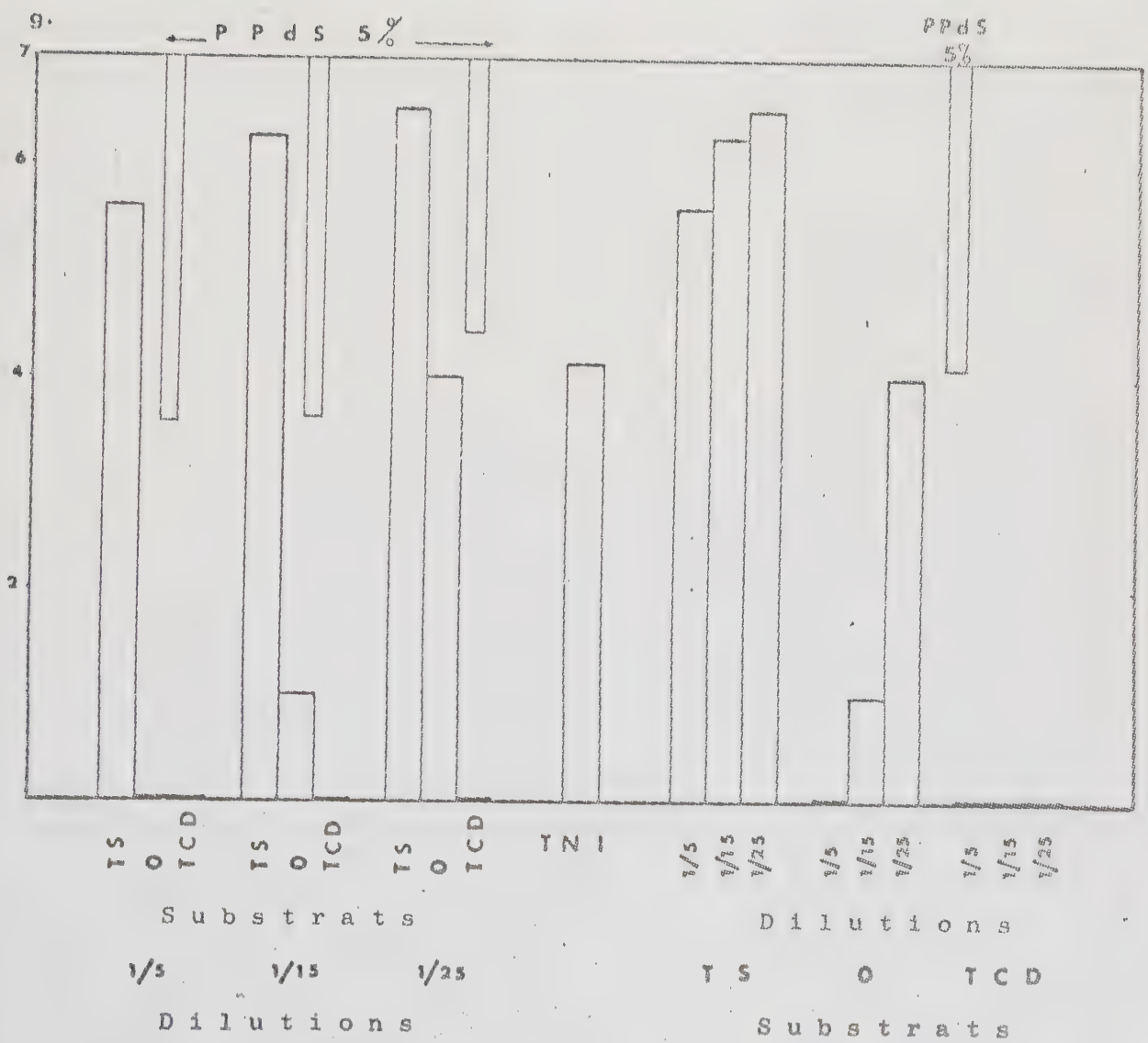


Fig. 23- Action des substrats sur l'intensité de la maladie (note de 0 à 100).

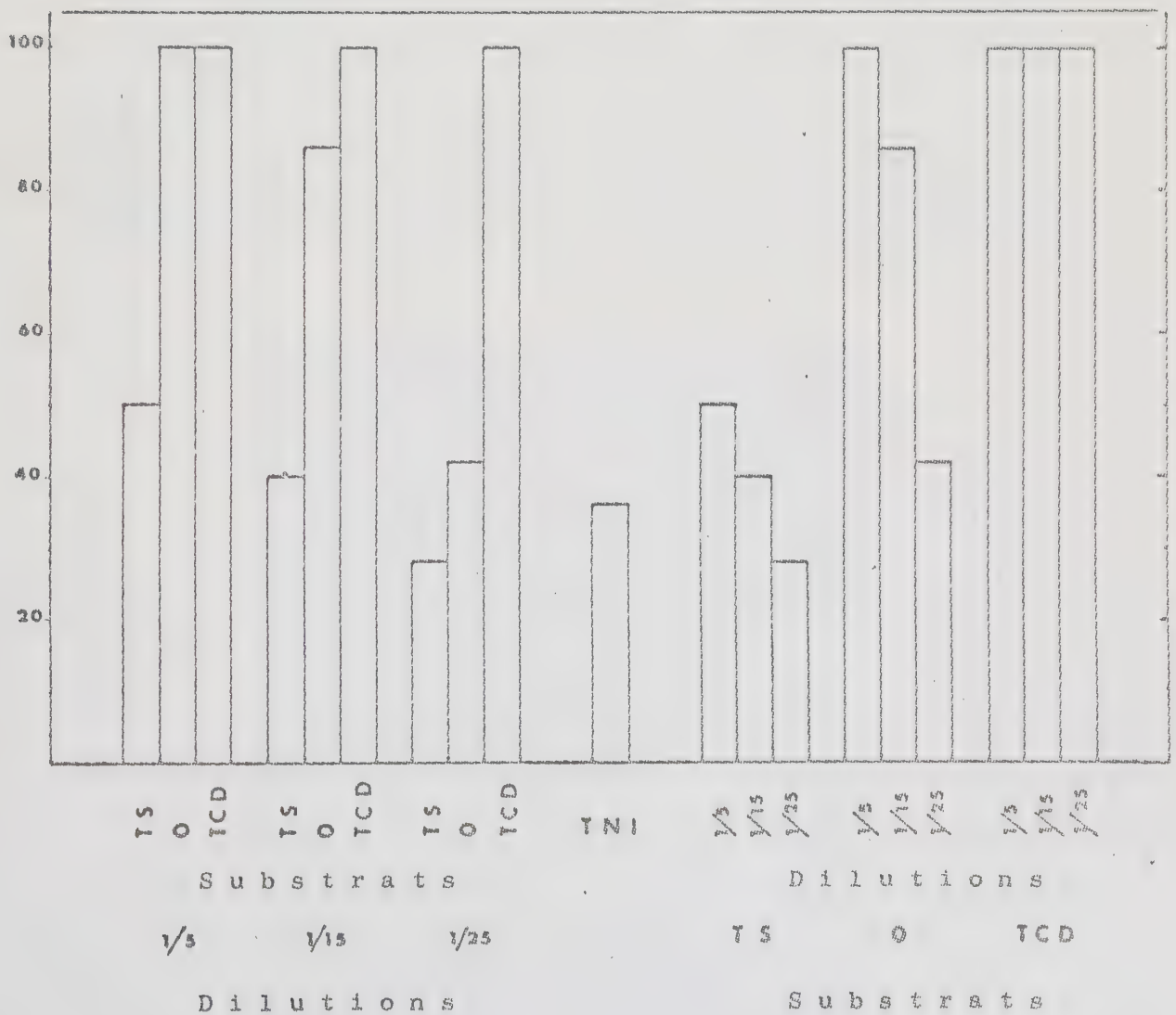


Planche n° 10

Influence de substrats sur le "pouvoir infectieux" ultérieur de R. solani lorsqu'ils sont appliqués directement sur les colonies du champignon en présence de terre normale ou stérilisée (2e essai).

1. Vue de l'essai réalisé avec de la terre normale non stérilisée.

2. Vue de l'essai réalisé avec de la terre stérilisée.

1 : 5, 1 : 15, 1 : 25, "dilutions" de terre utilisées.

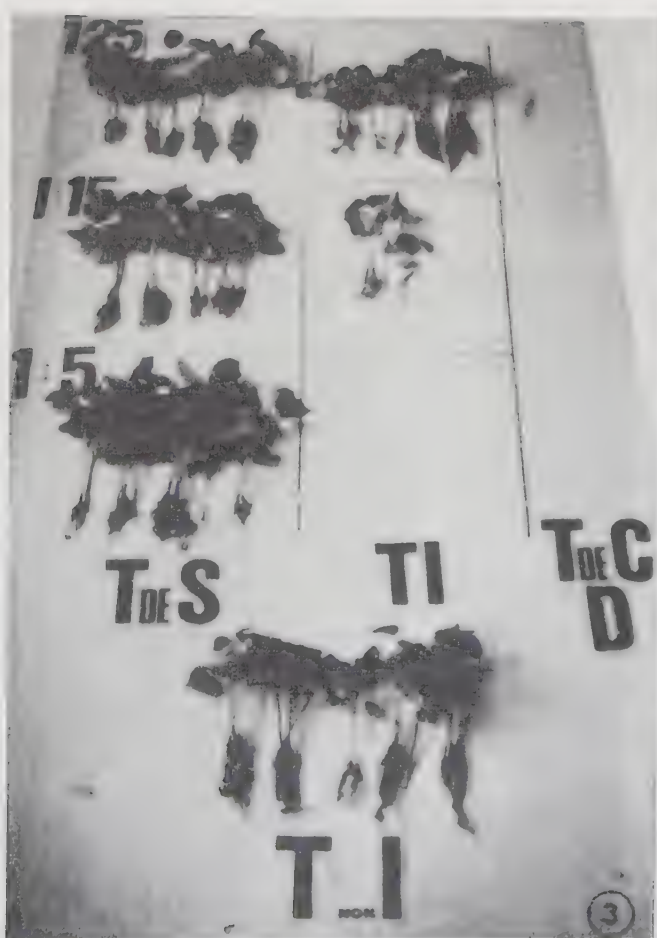
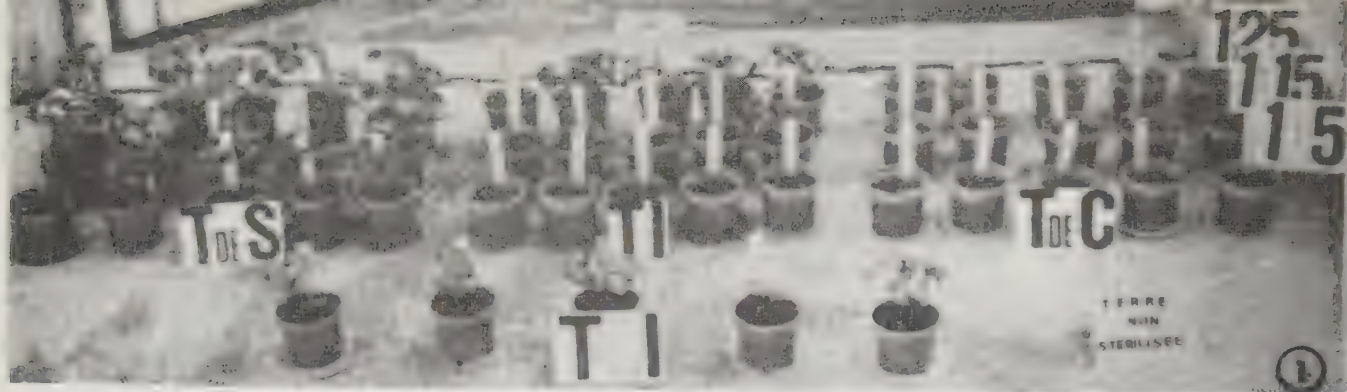
TNI : témoin sans R. solani et sans substrat.

TI : R. solani sans substrat.

T de S : R. solani + tourteau de Soja.

T de CD: " + tourteau de Coton décortiqué.

3. Plantules récoltées dans l'essai effectué avec de la terre normale.



D - DISCUSSION-CONCLUSION SUR LE DEPLACEMENT DES EQUILIBRES MICROBIENS DU SOL.

Les divers résultats que nous avons obtenus ainsi que les données bibliographiques montrent que le déplacement des équilibres microbiens du sol dans un sens défavorable aux parasites et à R. solani en particulier, est une opération extrêmement délicate, en raison du grand nombre de facteurs plus ou moins bien contrôlés qui interfèrent.

Ce déplacement des équilibres microbiens est obtenu en modifiant les conditions de milieu et nous avons cherché à y parvenir en incorporant au sol des substrats nutritifs divers dont le choix a été fait en fonction de résultats obtenus antérieurement.

Cependant, pour un même substrat tel que la farine de Soja, la réponse du champignon (qui se traduit par des attaques parasitaires plus ou moins fortes) dépend essentiellement de la durée d'action du substrat (c'est-à-dire du temps séparant l'incorporation du semis). Dans les conditions de nos essais, les meilleurs résultats sont obtenus lors d'incorporations réalisées au moins un mois avant le semis. Mais il est probable que ce temps varie avec un certain nombre de facteurs (tels que la température et l'humidité du sol, ses propriétés physicochimiques et microbiologiques, etc.) souvent mal contrôlés ce qui peut expliquer les résultats parfois contradictoires.

Les substrats organiques riches en protéines semblent présenter de l'intérêt ; cependant la richesse en protéines ne constitue pas une caractéristique suffisante, puisque nous avons vu que dans des conditions identiques certains d'entre-eux comme le tourteau de Soja ont une action très bénéfique alors que d'autres tels que le tourteau de Coton décortiqué ont une action particulièrement néfaste. D'autres constituants que les protéines doivent intervenir ou bien le temps optimum d'action peut varier selon le substrat utilisé. Ce problème reste entier et il conviendrait de le reprendre en utilisant des composés plus simples et mieux définis tant en ce qui concerne la composition que le conditionnement (granulométrie, etc.).

Malgré ceci les essais en modèle ont permis de recueillir un certain nombre d'informations intéressantes sur le mode d'action des substrats. Nous avons pu, grâce au modèle expérimental utilisé, qui semble être fidèle et donner des résultats reproductibles, observer les réactions de R. solani, (état du mycélium, formation des cellules en tonnelet et en sclérotas) et apprécier l'évolution du niveau d'inoculum.

Ces observations et les analyses microbiologiques, ont montré une corrélation assez forte avec les résultats du semis (attaques des fontes de semis). La comparaison de terre normale d'une part et stérilisée, d'autre part a montré clairement que les substrats intervenaient indirectement sur R. solani par action sur la prolifération des microorganismes du sol.

Les analyses microbiologiques ont montré que des modifications importantes se produisaient dans le sol (prolifération de bactéries notamment) sous l'action des substrats. Cependant, il semble (et nous en avons eu une idée grâce à la technique des lames pièges) que les phénomènes les plus intéressants se déroulent à proximité même des hyphes mycéliens ce qui permettrait de dégager, par analogie avec les plantes supérieures, la notion "d'hyphosphère".

En effet c'est à ce niveau, qu'il a été mis en évidence une différence d'action qui nous semble capitale, entre les deux substrats comparés. Dans le cas du tourteau de Soja, les microorganismes prolifèrent très abondamment le long des hyphes mycéliens en provoquant leur destruction selon un mécanisme qui n'est pas encore parfaitement élucidé.

Parmi les microorganismes présents dans "l'hyphosphère" il y a beaucoup de bactéries, mais le tourteau de Soja présente la particularité de stimuler de façon importante des actinomycètes du genre Streptomyces. Il semble bien que ces organismes dont on connaît par ailleurs les propriétés chitinolytiques jouent un rôle déterminant dans la destruction du mycélium.

S'il en est ainsi d'autres substrats tels que la Chitine dont l'intérêt a été mis en évidence pour lutter contre d'autres champignons (du genre Fusarium notamment devraient également conduire à une réduction des attaques de R. solani.

Il est à ce sujet intéressant de rapprocher le résultat précédent sur le rôle probable des actinomycètes, de l'observation réalisée par KHOURI et al. (1970) concernant l'absence quasi-totale de fontes de semis du Coton dans les sols calcaires ou semi-calcaires, de Syrie. D'autres auteurs (BAKER, 1970) ; (BATEMAN, 1970) ont fait des observations semblables et expliquent ce phénomène par une augmentation de la résistance des plantes (formation de pectate de calcium).

Cependant, les Actinomycètes ont la propriété d'avoir un optimum de pH relativement élevé et ne prolifèrent correctement que dans les sols neutre ou légèrement alcalins.

On pourrait donc penser que les propriétés physico-chimiques de ces sols conduiraient à un équilibre biologique (richesse en Actinomycètes et éventuellement Bactéries) tel que R. solani trouverait des conditions particulièrement défavorables à son installation. Cette hypothèse, qui pourrait en partie expliquer l'absence de dégâts dans ce type de sols, mérite d'être vérifiée car elle peut ouvrir la voie à une solution pratique simple, telle que le chaulage par exemple.

Enfin, il paraît évident que les résultats que nous avons obtenus dans la lutte contre R. solani, par l'incorporation au sol de substrats et de tourteau de Soja notamment, ne peuvent pas être transposés immédiatement dans la pratique, sans de nouvelles études réalisées en pleine terre et dans des conditions (de sol, de culture, de climat, etc.) de la Syrie.

Tout un programme de recherche appliqué doit être envisagé pour étudier les modalités pratiques de mise en oeuvre d'une telle méthode de lutte. Celle-ci peut être utilisée seule ou en combinaison avec d'autres telles que l'utilisation de nématodes mycéliophages que nous allons examiner dans le chapitre suivant.

- CHAPITRE V -

LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE *Rhizoctonia solani* KÜHN PAR UTILISATION DU NÉMATODE
MYCOPHAGE : *Aphelenchus avenae* BASTIAN, 1865 (Nematoda-Tylenchida).

A. - GENERALITES.

Aphelenchus avenae est l'une des 22 espèces étudiées de nématodes appartenant toutes à l'ordre des Tylenchida, qui se nourrissent aux dépens de champignons (CAYROL, 1970). Dans les conditions naturelles, ce nématode "suce" le contenu mycélien des champignons d'origine tellurique, qu'ils soient parasites ou saprophytes, mais il semble préférer les agents responsables des maladies des organes souterrains des végétaux (MANKAU, 1963).

Ce nématode est cosmopolite (THORNE, 1961, GOODEY et al., 1965, KLINK et BARKER, 1968) puisqu'on l'a trouvé en Afrique, en Europe, en Amérique du Sud, en Amérique Centrale, en Inde, en Palestine (MANKAU, 1963) et en Amérique du Nord (FISHER, 1972, MANKAU, 1963).

Quelques auteurs le considèrent comme parasite des végétaux puisqu'on le trouve fréquemment associé avec des organes souterrains malades (CHRISTIE et ARNDT in MANKAU, 1963, CHIN et ESTLY in RHOADES et al., (1959) ; DECKER (1962) ; BARKER (1963), STEINER 1936 in EVANS et al., 1970) ; LUC, 1958)). Beaucoup d'auteurs estiment que ce nématode mycophage ne cause aucun dommage aux organes végétaux sains (ROY (1973), SUTHERLAND et al., (1968), RHOADES et al. (1959), KLINK et BARKER (1968), BARKER (1965), GOODEY (1963), KLINK (1966)). MANKAU le considère même comme un mycophage strict qui joue un rôle important dans la réduction des champignons du sol (BOOSALIS et MANKAU, 1965). Son rôle s'exprime d'après KLINK (1966) par la destruction totale du mycélium dans le sol et par l'absence de formation de sclérotos du *Rhizoctonia solani* et de *Sclerotium* sp. placés sur sable humide.

Bien qu'il ait été découvert et décrit pour la première fois par BASTIAN en 1865, sa relation avec les plantes n'est signalée, à notre connaissance, qu'en 1936 lorsque CHRISTIE (1936) le considère comme un parasite du Coton. Son parasitisme vis-à-vis des champignons n'est connu que depuis une époque encore plus récente.

Parmi les champignons hôtes d'Aphelonchus avenae, on peut distinguer trois groupes, selon l'intensité de la multiplication du nématode sur ceux-ci. En nous appuyant sur les données des auteurs, nous pensons pouvoir distinguer assez arbitrairement trois groupes de champignons :

1. Champignons bons-hôtes (soit en moyenne plus de 1 000 individus dénombrés sur une culture en boîte de Pétri après 1 mois^{environ}). Ce groupe comprend de nombreux parasites de plantes :

- Rhizoctonia solani KÜHN (PILLAI et al., 1967a, 1967b ; MANKAU et al., 1963 ; EVANS et al., 1970).
- Sclerotium sp. (MANKAU, 1963 ; KLINK, 1966).
- Verticillium albo-atrum (EVANS et al., (1970) (MANKAU, (1963).
- Fusarium solani (PILLAI et al., (1967a, 1967b ; EVANS et al., (1970) (MANKAU, (1963).
- Fusarium solani F. sp. pisi (EVANS et al., (1970).
- Fusarium lateritium) (MANKAU, (1963)
- Pyrenochaeta sp.) id.
- Periconia sp.) id.
- Armillaria mellea) id.
- Thielaviopsis basicola) id.
- Penicillium sp.) id.
- Phoma botae) id.
- Pectyrtis cinerea (GOODEY et al., (1965))
- Pyrenochaeta terrestris)
- Mortierella pusilla)
- Fusarium moniliforme) (PILLAI et al., (1967b))
- Alternaria solani)
- Neurospora sitophyla (CHRISTIE et ARNDT (1936) in MANKAU et MANKAU (1963))
- Chaetomium globosum (PILLAI et al. (1967b))
- Chaetomium indicum (BARKER (1965))

Quelques basidiomycètes à chapeau sont aussi cités dont Agaricus bisporus (HOOPER, 1962 in Mc LEOD (1968)).

- Amanita rubescens) (SUTHERLAND et a. FORTIN (1968))
- Russula emetica)

2. Champignons hôtes médiocres (en moyenne moins de 1 000 individus dénombrés sur une culture en boîte de Pétri mais plus que le nombre initial inoculé). La plupart des espèces de ce groupe sont des saprophytes :

<u>Penicillium sp.</u>	}	(MANKAU (1963))
<u>Aspergillus terreus</u>		
<u>Rhizopus nigricans</u>		
<u>Trichoderma viride</u>		
<u>Alternaria sp.</u>		
<u>Polyporus sulfureus</u>		(PILLAI et al. (1967a, 1967b))
<u>Phytophthora cactorum</u>		(PILLAI et al. (1967))

3. Champignons non-hôtes ou toxiques (les nématodes ne se multiplient pas ou très peu ou bien ils neurent). Le nématode ne se reproduit pas sur ces espèces ; l'on note parfois une faible multiplication au départ qui diminue puis s'anéantit :

<u>Pythium ultimum</u>	}	(MANKAU, (1963))
<u>Penicillium sp.</u>		
<u>Mucor jansseni</u>		
<u>Phytophthora parasitica</u>		
" <u>citrophthora</u>		
" <u>cryptogea</u>		
<u>Rhizopogon roseolus</u>		(SUTHERLAND et al. (1968))
<u>Pythium irregulare</u>		(PILLAI et al. (1967b))
<u>Aspergillus niger</u>		

Cette dernière espèce semble produire une substance riche en acide oxalique qui provoque la mort des animaux. L'effet d'une solution d'acide oxalique à 0,005 M pendant 24 heures a le même effet que le filtrat du champignon poussé sur milieu CZAPEK-DOX (MANKAU (1969)).

La lutte biologique par l'utilisation de nématode couvre plusieurs secteurs. On connaît des espèces utilisées dans la lutte contre les insectes comme :

Reesinermis nielsenii pour lutter contre les moustiques

(PETERSEN (1972))

Neosaplectana carpocapsae (souche DD 136) qui attaque et tue plusieurs espèces d'insectes appartenant à 8 ordres différents (DUTKY et al. (1964)).

La lutte peut être dirigée contre des nématodes par exemple :

Thornia sp. est utilisé pour lutter contre des nématodes parasites des agrumes (BOOSALIS et al. (1965)).

Dans le domaine de la phytopathologie on a employé plusieurs nématodes : ROY AK., (1973) utilise Aphelenchus avenae pour lutter contre R. solani sur tomate, RHOADES et al. (1959) lutte contre Pythium arrhenomanes avec ce même nématode. SCHINDLER et al. (1956) combattent la Fusariose de l'ocillet avec Ditylenchus sp. . KLINK (1966) obtient des résultats intéressants sur les maladies des racines dues à des Fusarium sp. et des Pythium sp. sur haricot et petits pois. CAYROL (1967) obtient un bon développement de deux nématodes : Aphelenchus compos-ticella et Ditylenchus myceliophagus sur deux formes spéciales du Fusarium oxysporum : melonis et gladioli.

Ces résultats constituent l'étape préliminaire pour l'utilisation éventuelle de certains nématodes mycophages en tant que moyen de lutte biologique contre le champignon du sol.

Dans notre travail, nous avons essayé de lutter contre les fontes de semis de cotonnier causés par R. solani. La souche d'A. avenae utilisée dans nos essais a été isolée tout comme celle de R. solani à partir d'un sol d'une parcelle de Syrie cultivée en Coton depuis plusieurs années.

B - MATERIEL ET METHODES.

1 - Extraction des nématodes.

a) - A partir du sol.

A. avenae est un nématode "libre" (*) dans le sol. Son extraction s'ef-

(*) - Les nématologistes indiquent par là que cette espèce n'est pas inféodée aux végétaux.

fectue en utilisant des différences de densités existant entre les particules de sol et le nématode. Le poids spécifique des nématodes se situe entre 1,082 et 1,086 (ANDRASSY (1956) in MACARON J. (1972).

1 - Méthode par décantation.

L'échantillon de terre à analyser (1 kg par exemple) est homogénéisé et débarrassé des gros débris végétaux. Il est mis en suspension dans environ 3 litres d'eau. Après une sédimentation de quelques minutes, les grosses particules tombent dans le fond, le surnageant est alors versé dans une série de tamis, le 1er, de 2 mm d'intermaille sert à éliminer le sable, les 4 autres de 40 μ d'intermaille retiennent la plupart des nématodes et une partie de la suspension du sol. On remet le culot en suspension et on recommence 3 à 4 fois l'opération jusqu'à ce que le surnageant devienne clair. Les nématodes recueillis sur les tamis sont récupérés par rinçage.

2 - Méthodes par centrifugation.

Un échantillon de terre de 100 g bien homogénéisé est versé dans un godet de centrifugeuse avec 300 ml d'eau et 1 cuillerée de Kaolin. L'ensemble est agité à l'aide d'un "vibro-mixer" électrique puis centrifugé à 3 000 tours/minute pendant 7 minutes. Le surnageant contenant les débris organiques est éliminé, le culot contenant les nématodes est remis en suspension dans une solution de saccharose à 485g/litre afin d'obtenir une densité de 1,18. On centrifuge à 1 800 t/mn pendant 5 minutes. Les nématodes flottent dans le surnageant et sont recueillis sur 2 tamis de 20 μ qu'il suffit de rincer avec de l'eau pour les obtenir dans une solution claire et directement propice à l'observation. Avec deux centrifugations en présence de saccharose, on récupère la majorité des nématodes contenus dans le sol. Afin d'éviter l'effet osmotique il faut remettre les nématodes rapidement dans l'eau.

b) - A partir de culture de champignon (*).

La méthode utilisée se base sur la sédimentation des nématodes dans l'eau. Le contenu de la boîte de Pétri (culture de champignon sur gélose malt et les nématodes) est versé dans un broyeur, type mixeur ménager et recouvert d'eau, le broyage s'effectue pendant 20 secondes à une vitesse de rotation correspondant à vide à 15 000 t/mn. Le broyat ainsi obtenu est disposé dans des

(*) - La technique d'élevage de A. avenae en culture monoxénique est décrite en page 115.

tanis en nylon de 20 μ d'internaille (planche n° 11-2) placés sur des soucoupes remplies d'eau. On y ajoute quelques gouttes d'un antiseptique, le Chlorure de méthoxyéthylmercure. On récupère les nématodes qui ont traversé le tanis et on obtient une suspension très propre. En réalisant deux récupérations échelonnées de 24 heures on obtient 85 à 90 % des animaux présents dans la culture.

2 - Le comptage.

Les nématodes récupérés se présentent donc sous forme de suspensions aqueuses. On dilut avec de l'eau de façon à ce que 5 ml de la suspension contiennent environ 200 nématodes (l'homogénéisation est assurée par l'arrivée d'air dans le récipient à l'aide d'une pompe d'aquarium). Le dénombrement s'effectue sur une partie aliquote de 5 ml de suspension disposée dans une cellule de comptage (planche n° 11-1), sous une loupe binoculaire au grossissement voisin de $\times 25$.

3 - Désinfection et manipulation des nématodes.

La désinfection des nématodes est nécessaire pour l'élevage en conditions aseptiques ou pour leur utilisation en souche pure.

Pour ce faire on immerge les nématodes contenus dans un tanis à 5 μ d'internaille, pendant 20 minutes, dans une solution contenant du chlorure de méthoxyéthylmercure à 0,1 % et de la streptomycine à 0,1 %. On les rince ensuite à l'eau stérile (*). Ce traitement assure l'asepsie des organismes.

Pour élever le nématode aseptiquement sur le champignon dans des boîtes de Pétri ou en élevage de masse, les animaux ainsi désinfectés en suspension dans de l'eau stérile sont versés près d'une flamme dans un tanis stérile posé sur un petit entonnoir à robinet. Les nématodes décantent et les gouttes recueillies stérilement sont déposées sur le milieu d'élevage.

Technique de manipulations.

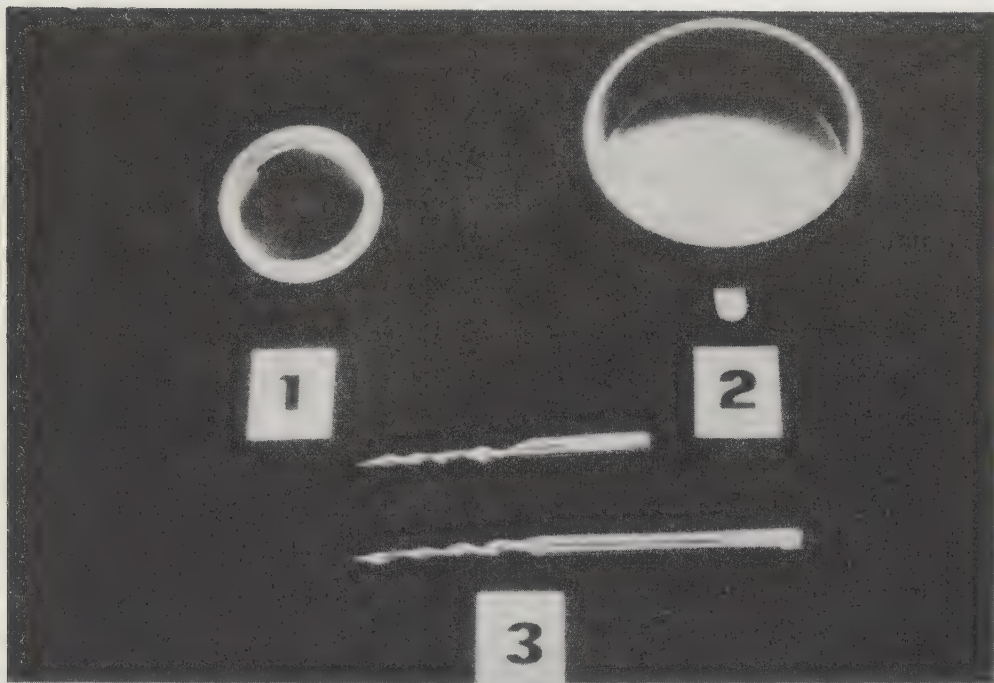
Si l'on désire manipuler un nombre déterminé de nématodes, on verse une suspension diluée dans une petite boîte de Pétri stérile, et, sous la loupe au grossissement $\times 50$, on aspire les animaux les uns après les autres à l'aide d'un aspirateur original (Planche n° 11-3) que nous avons façonné avec beaucoup de soin à l'aide d'un tube de verre de manière à obtenir un instrument comportant

(*) - Technique utilisée au laboratoire de Zoologie de l'I.N.R.A. - Rennes.

Planche n° 11

Quelques instruments utilisés pour la manipulation des nématodes.

- (1) - Cellule de comptage
- (2) - Tapis en nylon de 20 μ d'intermaille
- (3) - Aspirateurs à plusieurs parties bulbeuses.



plusieurs parties bulbouses de volume bien déterminé. Pour s'assurer que tous les nématodes sont expulsés, on peut rincer l'aspirateur à l'eau stérile. L'efficacité de cet instrument est beaucoup plus élevée que la "pêche traditionnelle" puisque l'on peut recueillir jusqu'à 1 500 nématodes à l'heure et la manipulation est beaucoup moins fastidieuse.

Une fois que l'on a obtenu une culture pure d'A. avenae sur champignon, il n'est pas indispensable de recourir à la désinfection des larves.

Pour prélever des individus dans la culture, il suffit donc de :

- soit 1° de découper un morceau de gélose et de remplir d'eau stérile la cavité ainsi formée. Les nématodes s'y regroupent en abondance et on peut aisément les récupérer avec l'aspirateur.
- soit 2° de les récolter sous le couvercle de la boîte.

En effet, si la culture est âgée et les conditions d'élevage sont favorables, les larves sont abondantes dans le milieu mais leur nombre n'excède pas une certaine limite. Une migration massive des larves est observée, surtout dans le cas de R. solani en direction des zones moins peuplées. De nombreuses larves se dirigent ainsi vers le couvercle des boîtes de Pétri et se concentrent notamment sur leurs bords là où persiste un film d'eau. Il est alors aisé de prélever de nombreux individus.

- soit 3° sous le couvercle des boîtes d'élevage, les femelles pondent dans les gouttelettes d'eau qui se forment par condensation. Il est ainsi possible de prélever des oeufs, ce que l'on réalise en utilisant un cil à bout brûlé préalablement et désinfecté à l'alcool.

Toutes ces manipulations s'effectuent dans une chambre stérile à proximité de la flamme d'un bec bunsen.

4 - Techniques d'observation.

Dans un milieu gélosé déposé dans une boîte de Pétri, on immerge stérilement une lame recouverte des lanelles (technique de lame-piège). On ensemence successivement le champignon puis le nématode. Après une semaine environ, champignon et nématode ont colonisé l'intérieur de la "lame-piège" ce que l'on contrôle par l'observation à la loupe binoculaire. Ensuite, on sort la lame-piège pour l'observation microscopique après avoir humidifié le pourtour des lanelles pour éviter la dessiccation. Pour conserver la préparation plusieurs jours, il

suffit de la placer dans une chambre humide constituée par une boîte de Pétri contenant de l'eau, la préparation est placée, lamelle vers le bas, sur un support constitué par un tube de verre plié en Z.

C - CARACTERISTIQUES TAXONOMIQUES ET BIOLOGIQUES D'*A. avenae*

1 - Systématique.

L'espèce *A. avenae* décrite pour la première fois par BASTIAN en 1865, appartient à l'ordre des Tylenchida qui comprend la plupart des espèces phytophages, mycophages, etc. . Le genre *Aphelenchus* se caractérise (voir planches n° 12, 13 et 14) par un bulbe médian musculaire très gros, presque carré, une queue très ronde chez la femelle et pointue chez le mâle. Le genre comprend quatre espèces (THORNE, (1961)) dont *avenae* est le type (GOODEY, (1960)). Cette espèce est la plus connue et la plus répandue dans le monde et on l'isole souvent dans des échantillons de terre prélevés au niveau de la rhizosphère (THORNE, (1961)).

La position taxonomique de cette espèce est donnée par le tableau suivant : (GOODEY, (1963) ; G.B. GOODEY, (1960)).

- Ordre : TYLENCHIDA

- Superfamille : TYLENCHOIDEA

- Superfamille : APHELENCHOIDEA

- famille - Anomyctidae

- famille - Paraphelenchidae

- famille - Aphelenchoididae

- famille - Aphelenchidae

-sous-famille - Aphelenchinae

- genre : *Aphelenchus*

espèce type : *Aphelenchus avenae*

2 - Morphologie.

Ce nématode vit à l'état "libre" dans le sol. Il est filiforme. La femelle est légèrement plus longue que le mâle mais sa longueur varie, sous les conditions d'élevage au laboratoire, avec l'hôte et la densité de population dans le milieu (EVANS et al. 1970). Elevée sur *R. solani*, la femelle atteint une longueur maximale et une population dense (EVANS et al. (1970)). Voici quelques caractères morphométriques moyens de deux sexes (GOODEY, (1963)).

⋮	⋮	⋮	⋮			
⋮	(*)	⋮	fenelle	⋮	mâle	⋮
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
⋮	Longueur totale	⋮	0,80 à 0,85 mm	⋮	0,75 à 0,77 mm	⋮
⋮	a	⋮	28 à 29	⋮	28,4 à 31	⋮
⋮	b	⋮	8 à 8,6	⋮	5 à 6	⋮
⋮	c	⋮	28 à 29	⋮	25 à 31	⋮
⋮	V %	⋮	70 à 78	⋮	-	⋮
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮

Planche n° 13

Planche n° 12

3 - Biologie.

Le développement d'Aphelenchus avenae passe par quatre stades larvaires (SHEPHERD et al. (1971)). Le premier stade muni d'un stylet réduit se développe et donne naissance au 2e stade à l'intérieur de la paroi de l'oeuf. Cette larve de 2e stade se différencie de la toute jeune larve par le mouvement du stylet, la contraction du bulbe médian, sa forme spiralée et son mouvement constant. Le tégument de l'oeuf devient mou 4 heures avant l'éclosion qui s'effectue en 1 jour à 30° C (HANSEN (1970) ; KLINK (1966), en 2 à 3 jours à 23° C (GOODEY et al. (1965)), (HANSEN et al. (1970)). Selon TAYLOR (1962), la température optimale d'éclosion est de 36° C (in SHEPHERD et al. (1971)).

La deuxième mue s'effectue en 2 jours, la 2e après 3 à 4 jours et la 4e a lieu 6 à 7 jours, après quoi, la fenelle est apte après 24 heures à pondre (FISHER (1972)), FISHER (1969)), HANSEN et al. (1970)). La durée d'une génération dépend essentiellement de la température et varie de 4 jours à 30° C (EVANS et al. (1970)), à 6 jours à 28° C (HERCHLER in GOODEY et al. (1965)), ou de 11 à 12 jours à 20° C (EVANS et al. (1970)), GOODEY et al. (1965)). La croissance de l'animal s'effectue entre chaque mue et la nourriture doit être suffisante pour que la durée des stades larvaires soit régulière (FISCHER, 1970 in SHEPHERD et al. (1971)).

La plupart des populations d'A. avenae sont parthénogénétiques et les mâles gênent même la reproduction quand ils se trouvent avec des fenelles dans une proportion de 2 pour 1, dans les conditions de l'expérience (FISHER (1972)).

(*) - En nénatologie on a coutume de caractériser les espèces par un certain nombre de rapports morphologiques. Parmi les plus courants on définit :
a = longueur/le plus grand diamètre : b = longueur/la distance de la tête à l'oesophage : c = longueur/longueur de la queue (de l'anus à l'extrémité) :
V % = $\frac{\text{longueur de la tête à la vulve}}{\text{longueur totale}} \times 100$

Dans quelques populations, par contre, les femelles ne commencent à pondre qu'après la fécondation par les mâles. Si cette fécondation intervient tardivement, la fécondité se trouve réduite. Un mâle conserve son activité pendant 5 semaines à 27° C et il peut féconder plusieurs femelles (FISHER, 1972).

Plusieurs facteurs influencent la quantité d'oeufs produits par une femelle : la température, le type de reproduction sexuée ou asexuée, la quantité de nourriture, la qualité de l'hôte, la densité de population, mais en règle générale, la moyenne se situe aux alentours de 200 oeufs par femelle pendant toute sa vie (FISHER (1969)). La mortalité de la femelle intervient après :

21 jours à 35° C

32 jours à 30° C

37 jours à 25° C

48 jours à 20° C

(FISHER (1969))

et plus de 56 jours à 15° C (EVANS et FISHER (1970))

La femelle peut rester 8 jours sans se nourrir et elle reprend la ponte 24 heures après son premier repas tout en pondant la quantité d'oeufs habituelle (FISHER, 1969).

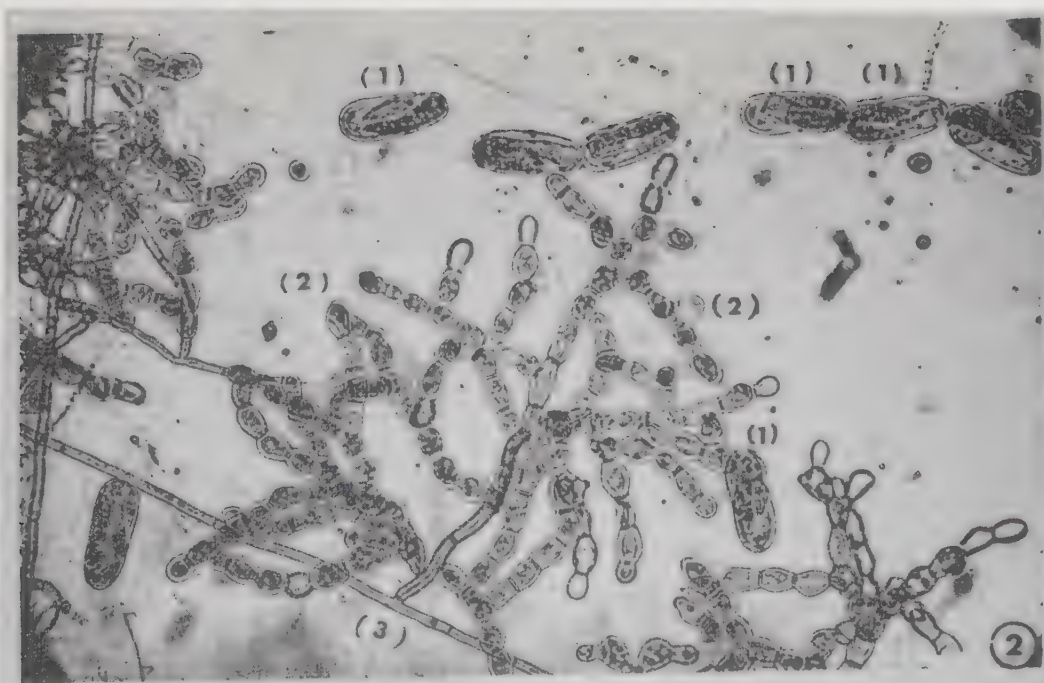
Les mâles se trouvent très rarement dans les populations parthénogénétiques (GOODEY et al. (1965)) et on ne connaît pas exactement les conditions favorables à leur production (GOODEY, (1963)), mais il semble que la température relativement élevée favorise leur apparition (HANSEN et al. (1972)). HANSEN et al. (1970) trouvent que 30 % des larves donnent des mâles à 30° C et aucune à température inférieure. Par contre, EVANS et al. (1970) rapportent qu'ils ont trouvé deux mâles parmi 700 000 larves à 30° C et un seul à 28° C. Nous en avons isolé directement de la terre sèche en moyen de la lanc-piège (Planche n° 12).

La température optimale pour le développement le meilleur et le plus rapide de la population se situe entre 25° C et 30° C (EVANS et al. (1970) ; BARKER et al. (1965), PILLAI et al. (1967b)). Etant donné qu'A. avenae vit dans la phase aqueuse, il est évident que la sécheresse le détruit complètement si les autres conditions ne sont pas favorables et notamment la température et le milieu.

Planche n° 12

Photo 1 : mâle d'A. avenae isolé directement du sol au moyen d'une lame piège. On peut remarquer la différence entre la queue du mâle et celle de la femelle (en bas à gauche).

Photo 2 : oeufs d'A. avenae juste avant éclosion (larves de 2^o stade)
(1) associés avec R. solani se présentant sous forme de cellules en tonnelet (2) prenant naissance à partir des hyphes conducteurs (3).



4 - Nutrition et mécanisme d'attaque.

BARKER et al. en 1965 ont montré que A. avenae peut se nourrir sur des tissus végétaux (BARKER, 1963) mais uniquement dans des conditions très particulières sur cultures de tissus de tabac, de pervenche, de tomate et de carotte. Mais les cals deviennent résistants si on les laisse croître 2 à 3 semaines avant de les inoculer et le nématode ne semble pas capable de percer ou de pénétrer les tissus durcis (BARKER (1965), SUTHERLAND et al. (1968)). Par ailleurs, ce nématode peut parasiter d'autres nématodes (FISHER et al. (1967), DERKER (1962)) et il attaque les oeufs de Cephalobus sp. (BOOMALIS et al. (1965)).

Le nématode peut se développer indépendamment des êtres vivants. HANSEN et al. (1970), ont réussi à le multiplier en culture axénique sur un milieu dont la composition est la suivante :

0,3 ml de milieu défini chimiquement Cb MM est mélangé à partie égale avec un extrait embryonnaire de poulet à 25 % et de sérum humain à 10 %. On apprécie le rôle nutritif des substances protéiques solubles dans le milieu de culture et on peut conclure au même temps que le stylet n'est pas indispensable à la nutrition.

Les champignons constituent sa nourriture par excellence dans les conditions naturelles. A. avenae joue donc un rôle considérable dans l'écologie du sol (MANKAU (1969), KLINK et BARKER (1968)). CAYROL (1971) constate une relation morphométrique entre le nématode et son hôte, "les nématodes, quels qu'ils soient, n'attaquent que les hyphes dont la largeur est comprise entre le quart et le tiers du diamètre de leur propre corps". Mais les différentes espèces de champignons attaquées par A. avenae ont un diamètre variant dans de très larges proportions. Les travaux de MANKAU (1969a), (1969b), GOODEY et al. (1965) et de SUTHERLAND et al. (1968), laissent supposer que les substances répulsives ou toxiques secrétées par l'hôte jouent un rôle déterminant, au moins pour A. avenae et plus important que les caractères morphométriques.

De plus, le nématode n'attaque que le mycélium et il serait plus juste de l'appeler "mycéliophage" plutôt que mycophage car nous ne l'avons jamais observé s'attaquant aux organes de reproduction ou de conservation tels que les chlamydospores et les sclérotés. La résistance de ces organes semblent être d'ailleurs d'ordre mécanique.

ronase, mises en évidence par BARKER (1966), jouent un rôle au moment de l'attaque cellulaire de la paroi du champignon pour la rendre moins résistante et faciliter la pénétration du stylet.

5 - APTITUDE A LA CONSERVATION.

La longévité des larves d'A. avenae est réduite notamment à la température optimale de l'activité biologique pour laquelle l'eau est un facteur indispensable. Mais en absence d'eau, l'animal entre dans un état de dormance encore appelé cryptobiose. Voulant utiliser cette propriété du nématode, nous avons étudié ses possibilités de survie après dessiccation. La conservation à basses températures (5°) et l'aération des milieux humides augmentent la longévité des larves. Nous avons ainsi constaté que :

a. Survie après dessiccation.

COOPER (1971) signale que les larves d'A. avenae au 4^e stade peuvent survivre plus d'un an dans un milieu desséché, sur un champignon cultivé sur P.D.A. ; tandis que les adultes ou les larves à l'état libre ne survivent que pendant quelques minutes. Sous d'autres conditions (culture de R. solani, sur extrait de malt gélosé) nous avons remarqué que les populations d'A. avenae se comportaient de la même façon. Quand les populations ont atteint leur développement maximum dans une boîte de Pétri, on laisse le milieu se dessécher naturellement à la température de laboratoire (25° C). Cinq mois plus tard un prélèvement du milieu, alors très sec, est effectué, On le réhumidifie par trempage dans l'eau pendant quelques heures. On peut alors constater qu'un bon nombre de larves sont restées vivantes, et elles reprennent leurs mouvements habituels 5 à 7 heures après l'imbibition. En utilisant la méthode d'observation décrite auparavant (page 104) et sur une préparation desséchée pendant 4 mois, on constate que la larve prend une position caractéristique dans la culture (Planche n° 14). L'animal s'enroule en spirale, la tête vers l'intérieur et reste, apparemment, sans activité biologique. Après adjonction d'eau, qu'elle absorbe très lentement, la cuticule commence à se gonfler et l'animal se déroule peu à peu. La plupart des animaux en dormance sont des adultes, mais le passage du 4^e stade larvaire au stade adulte est très rapide ce qui peut expliquer la contradiction apparente avec les résultats de COOPER.

Nous avons pu isoler un oeuf au stade "une cellule" et deux larves du 3^e stade sur 30 individus. Au cours de l'examen de la préparation il apparaît que toutes les larves sont mortes et qu'on observe ni oeufs, ni larves

Plusieurs auteurs (RHOADES et al. (1959), FISHER et al. (1967), SUTHERLAND et al. (1968), CAYROL (1971)) ont décrit le mécanisme de la prise de nourriture chez les nématodes mycophages. Nous le décrirons ici pour le cas d'A. avenae sur R. solani, souche du Coton par l'utilisation de la technique précédemment décrite (page 100.) Mécanisme d'attaque : (Planche n° 13).

La larve se déplace contre les filaments mycéliens sans qu'elle manifeste le désir de se nourrir. Il arrive qu'elle rencontre un filament mais qu'elle le laisse sans y toucher puis elle revient plus tard pour l'attaquer comme si elle le rencontrait pour la première fois. Alors, elle prospecte la paroi du filament, semblent rechercher un point de faible résistance, si elle n'y parvient pas, elle en cherche un autre. Une fois ce point de contact trouvé, elle applique sa tête fortement contre l'hyphe et commence à le piquer avec son stylet. Celui-ci doit se trouver orienté perpendiculairement à la paroi mycélienne mais il n'est pas indispensable, contrairement à certaines affirmations que l'ensemble de la région céphalique attaque le mycélium dans cette position. Un mouvement très rapide de va-et-vient dure en moyenne de 5 à 8 secondes après lesquelles le stylet pénètre généralement de 2 à 3,5 μ (HANSEN et al. (1970)) dans la cellule. Il arrive que la larve ne réussisse pas à parcer la paroi mycélienne apparemment trop résistante surtout pour les très jeunes larves ayant un stylet encore fragile, elle cherche alors un autre point et le plus souvent ne revient pas au point précédent. Quand la pénétration est réussie, le stylet s'arrête et le bulbe médian commence tout de suite à pomper par des mouvements de contraction rapide et pendant une durée relativement courte atteignant 25 secondes et dépendant de la taille du mycélium et de l'abondance de son contenu. Le cytoplasme s'écoule visiblement vers le stylet, non seulement à partir de l'ensemble de la cellule, mais encore à partir des cellules voisines par l'intermédiaire du pore intercellulaire. Quand une prise de nourriture est terminée, le nématode enlève son stylet sans que le contenu cytoplasmique s'écoule à l'extérieur puis attaque le même mycélium et parfois la même cellule en un point voisin. Il faut remarquer que le contenu cellulaire n'est pas totalement épuisé si bien que la cellule, même morte, conserve sa forme et ses dimensions initiales (Planche n° 13-2).

La courte durée de l'aspiration laisse penser que l'animal prend sa nourriture à l'état brut sans injecter de sucs salivaires dans l'hôte et par conséquent chez A. avenae la digestion extracorporelle du cytoplasme n'existerait pas (RHOADES et al (1959), DONCASTER, (1971)). Mais il est possible, en revanche, que des enzymes produits par l'animal et notamment la cellulase et la polygalactu-

Planche n° 13

La prise de nourriture chez A. avenae à partir du champignon hôte (R. solani).

Photo 1 : vue générale de l'animal et du champignon.

Photo 2 : l'animal attaque le même hyphe mais en point différent.

Photo 3 : vue partielle montrant quelques détails de l'animal : la tête (T) ; le stylet (S) et le bulbe médian (B).

L'observation microscopique permet de voir le contenu cellulaire de l'hyphe s'écouler vers le stylet. Certains filaments sont déjà vidés (↘)(Photo n° 2).

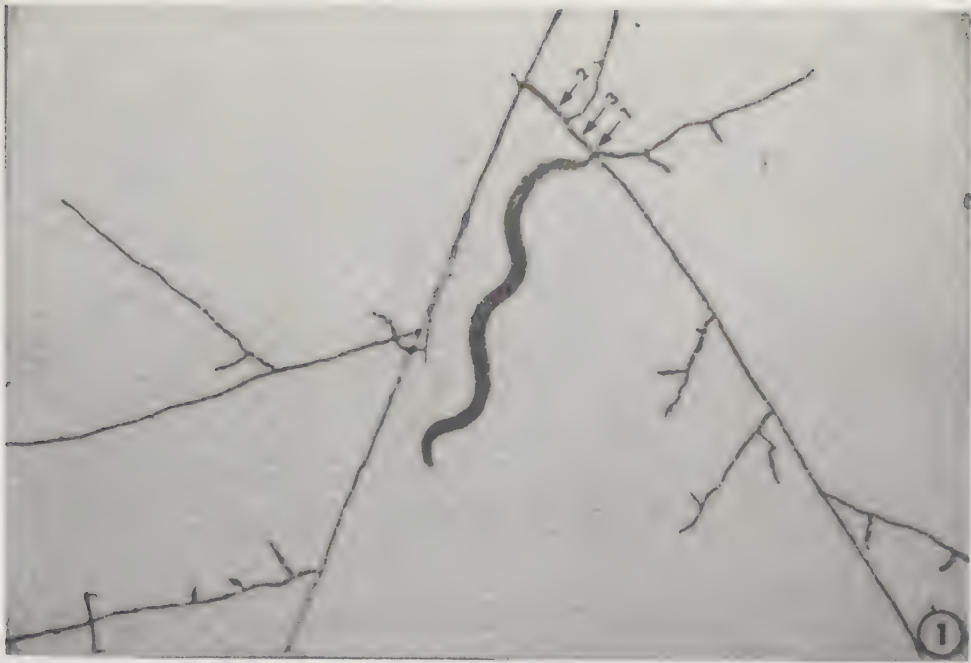


Planche n° 14

L'état de dormance chez A. avenae après dessiccation dans un milieu à base de l'extrait de malt gélosé.

Photo 1 : deux larves de A. avenae :

a. en dormance.

b. morte .

au sein d'une culture de R. solani qui se présente en grande partie sous forme de cellules en tonnelet.

Photo 2 : adulte de A. avenae endormi au sein du milieu très sec.

Photo 3. le même adulte à plus forte grossissement. On distingue :

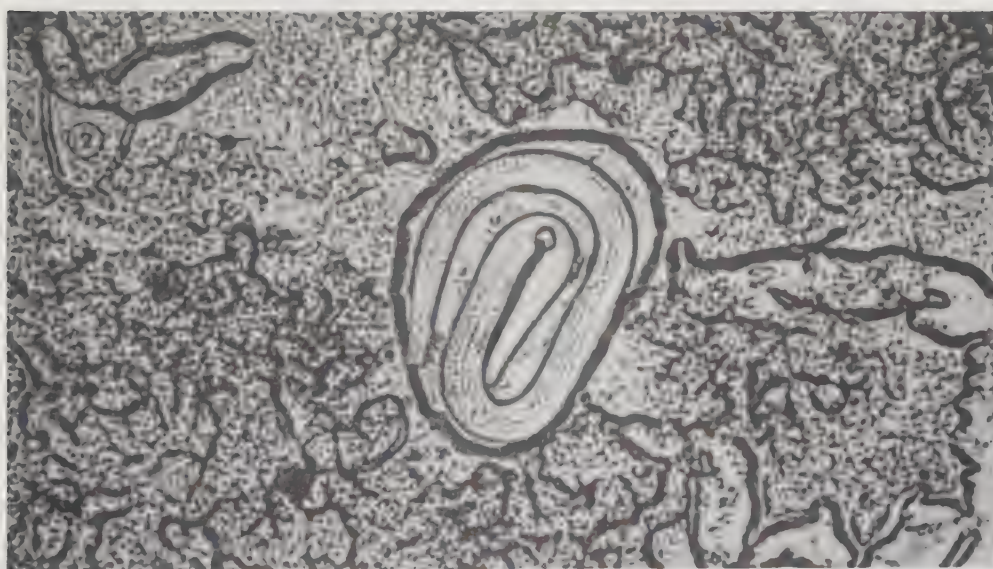
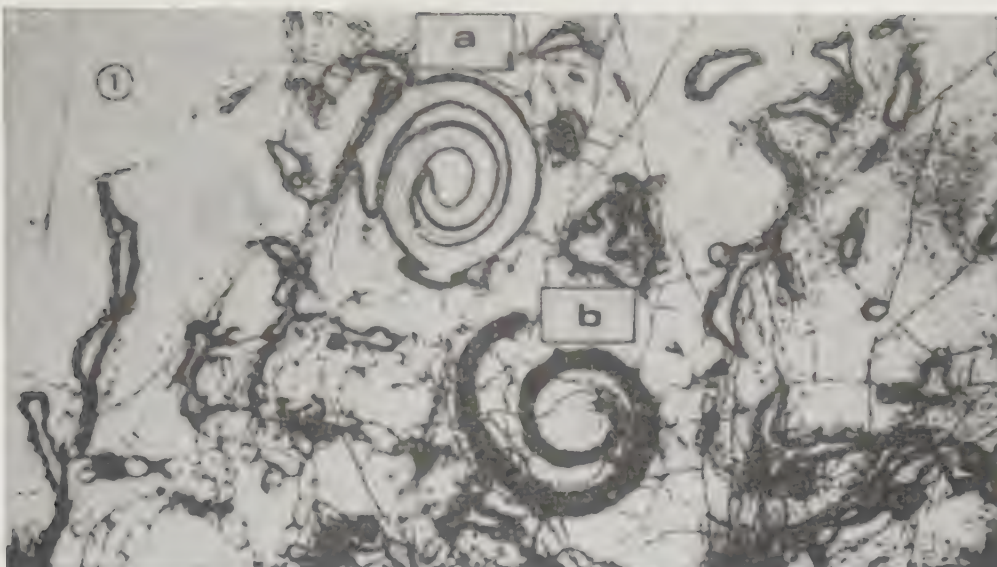
A = anus

B = bulbe médian

S = stylet

V = vulve

Q = queue bien arrondie, caractéristique des femelles.



mâles. Ces dernières étaient très rares à l'origine.

b. Survie aux basses températures.

FISHER (1969) a noté que plus la température est basse plus la femelle survit longtemps : sa longévité varie de 21 jours à 48 jours selon que la température est de 35° C ou 20° C. COOPER (1971) signale que A. avenae, contrairement à d'autres nématodes, résiste à la congélation sans qu'il soit endommagé, mais l'auteur ne donne pas de précision quant aux conditions expérimentales. C'est pourquoi, nous avons choisi de travailler à 5° C environ, étant donné qu'à cette température, facile à obtenir, les processus métaboliques sont très ralentis mais non stoppés. Trois modalités d'étude ont été retenues :

1 - Nématodes et champignon sur malt liquide.

150 ml de milieu liquide à base d'extrait de malt sont ensemenés avec R. solani/Coton dans une boîte de Roux. La colonie du champignon, dès qu'elle couvre la surface du liquide, est inoculée avec 10 femelles d'A. avenae et mise à incuber à la température du laboratoire (environ 23° C) pendant trois mois. Lorsque la population atteint 2,5 millions d'individus, la boîte est placée, toujours à plat à 5° C. Les larves conservent ainsi leur capacité de survie pendant plus d'un an et demi. Il est évident que l'activité biologique de ces larves est très réduite mais elles n'entrent pas dans un état de dormance. 85 % de la population à tous les stades de développement, oeufs et larves, mais surtout des adultes ont survécu.

2 - Nématodes et champignon sur malt gélifié.

On prélève 2 cm² dans une culture de R. solani effectuée en boîte de Pétri et inoculée depuis un mois avec A. avenae. Ce fragment contenant plusieurs milliers de nématodes, est déposé dans une boîte de Pétri (0,5 cm) stérile dont les bords sont recouverts d'un ruban adhésif que l'on perce avec une aiguille pour assurer une certaine aération. Une boîte est placée à 5° C, une autre à la température du laboratoire (environ 25° C).

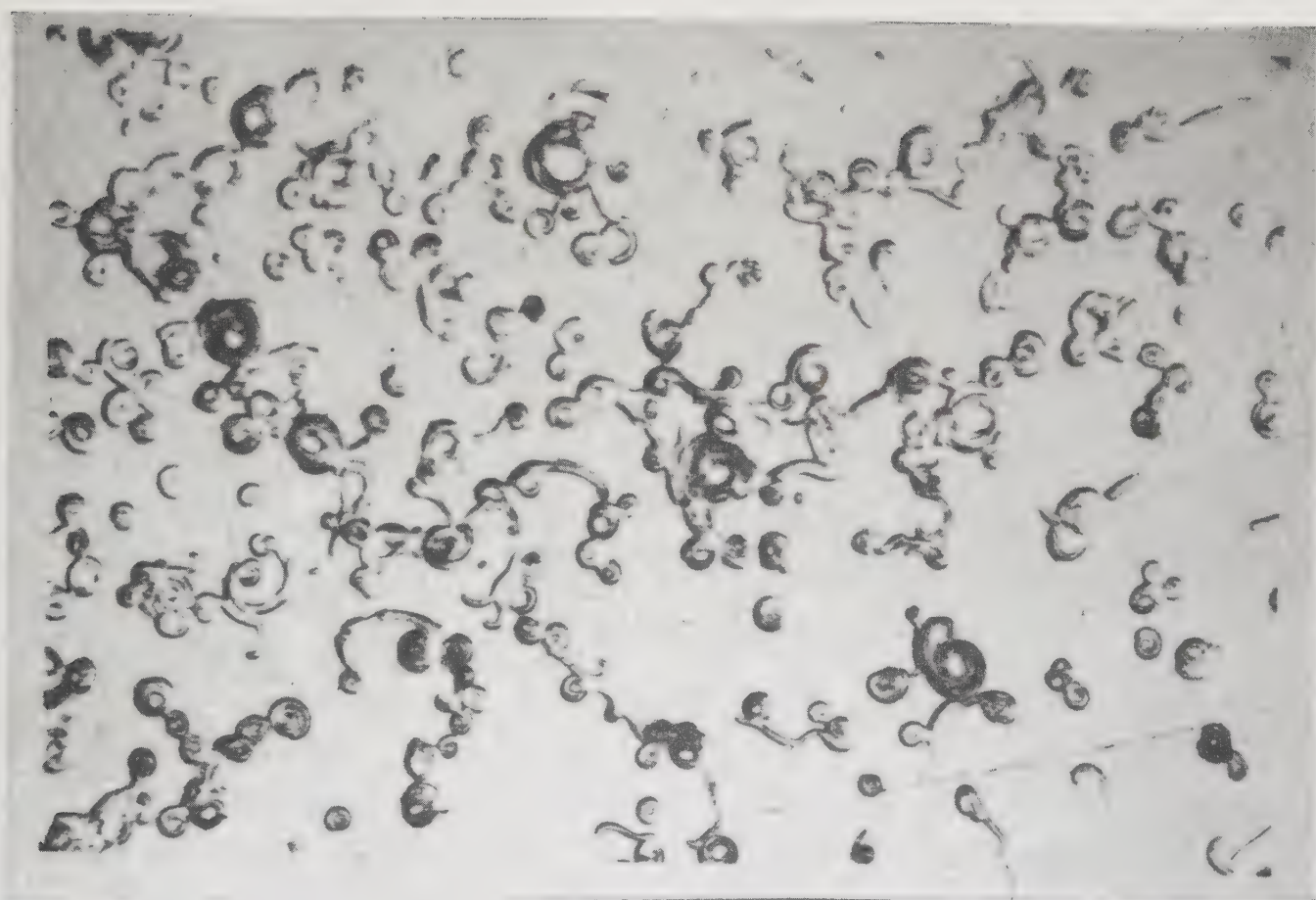
On constate que les nématodes ont migré sur le fond sec des boîtes. A 5° C, les nématodes se localisent autour du fragment de gélose et se recroquevillent. Suite à la dessiccation, ils entrent en dormance, toutefois certains d'entre eux, mais ils sont rares, meurent et prennent une forme allongée (Planche n° 15). Dans la gélose la totalité des individus entre en dormance.

Planche n° 15

Larves d'A. avenae en dormance.

Ces larves se mettent en dormance lors de l'évaporation progressive à basse température (5° C) du film d'eau dans lequel elles se trouvaient

Les larves enroulées en spirale sont toutes vivantes tandis que celles qui ne sont pas enroulées sont mortes.



A la température du laboratoire, les nématodes, qui ont migré sur le fond de la boîte en nageant dans un film d'eau très mince, meurent rapidement après dessiccation. Quant aux larves restant dans la gélose, la plupart d'entre elles sont mortes dès que le milieu s'est desséché (après 20 jours environ).

3 - Suspension de nématodes sur perlite.

Deux récipients (godet GAP à fond plat, 3 ml, pour auto-analyseur) sont remplis avec de la perlite stérilisée et ensemencés avec du R. solani. Une suspension très concentrée de nématodes est versée dans chaque récipient sans, toutefois, que l'humidité du milieu devienne excessive. Chaque godet est bouché avec un bouchon percé, permettant l'aération, l'un est placé à 5° C, l'autre à la température du laboratoire. Les nématodes contenus dans ce dernier sont morts après 35 jours, alors qu'à 5° C, la perte est quasi-nulle après 7 mois. On note que la population est constituée des larves de tous stades et que ces larves se remettent à l'état actif dès qu'elles se trouvent dans l'eau.

c. Survie après aération en suspension aqueuse.

Les nématodes sont des organismes aérobies et l'oxygène est indispensable pour leurs fonctions biologiques telles que la ponte, l'éclosion, le développement des larves, la mue et le déplacement. Ces activités exigent une concentration d'oxygène suffisante puisque, d'une part, l'énergie produite lors d'un métabolisme oxydatif est plus importante que celle produite par un métabolisme de fermentation, d'autre part, l'accumulation de produits toxiques ou inhibiteurs résultant d'une fermentation anaérobie gênent la poursuite des opérations métaboliques (COOPER et al. (1971)). A. avenae survit 40 à 45 jours en conditions anaérobies mais lorsqu'il existe un courant continu d'oxygène, la survie se prolonge jusqu'à plus de 90 jours sans que l'activité physiologique paraisse diminuée (COOPER (1969) in COOPER et al. (1971)). Cependant, on peut considérer ce nématode comme un anaérobie facultatif puisqu'il peut réaliser son métabolisme aérobie et régler sa consommation d'oxygène dans la mesure où la concentration de l'oxygène dans l'atmosphère est comprise entre 4 % et 21 % (voir NICHOLAS (1964)). De plus, sous certaines conditions physiologiques (animaux affaiblis par exemple) et thermiques (à 27° C) l'anaérobiose prolongerait la période de survie de un mois (COOPER et al. (1971)).

Nous avons remarqué que les larves de différents stades, plongées dans l'eau d'une éprouvette, ne survivent que 3 semaines à 5° C et seulement

quelques jours à 15° C-20° C, alors que dans une culture liquide monoxénique de R. solani du Coton de 2 à 3 mm d'épaisseur, les animaux peuvent survivre, sans aucune diminution de leur viabilité, 18 mois à 5° C bien qu'ils soient en nombre important (par exemple 2, 5 millions dans une suspension qui s'évapore progressivement). Le pourcentage des survivants (85 %) devient nul après un mois lorsque la même culture est placée à 5° C dans des tubes à essais (16 x 160 mm) remplis avec 20 ml de liquide. En outre à l'examen d'une préparation constituée avec une "lane-piège" conservée à 5° C pendant une semaine, montre que les adultes continuent à se nourrir à cette température.

d. Conclusion.

Pour conserver une population d'A. avenae, il est nécessaire d'assurer pendant toute la période voulue des conditions aérobies d'une part et de provoquer le ralentissement des activités biologiques des animaux par un abaissement de la température d'autre part. A 5° C la plupart de ces nématodes n'entrent dans un état de dormance que lorsque le milieu devient déshydraté alors que, dans un milieu assez humide, ils conservent certaines activités biologiques telles que le mouvement et la prise de nourriture. Pour maintenir en vie tous les nématodes à tous les stades, il est donc indispensable de conserver une population en présence d'un champignon hôte et il faut éviter la dessiccation du milieu. Dans un milieu desséché, les jeunes larves ne supportent pas la déshydratation alors que dans un milieu humide mais froid, les oeufs et les larves à tous les stades de développement résistent à la conservation (*).

(*) - Signalons en outre, qu'il est indispensable d'obtenir des cultures sans contamination par les moisissures telles que Aspergillus niger et Penicillium sp. puisque les saprophytes inhibent la multiplication d'A. avenae. Nous avons même observé que le nématode se nourrit sur le mycélium de Penicillium sp. mais meurt rapidement lors de la fructification du champignon. Sur Aspergillus niger nos observations confirment celles de MANKAU (1969a et 1969b).

D - ETUDES EXPERIMENTALES DE L'ELEVAGE DE A. avenae.

1 - Choix du champignon.

Dans des boîtes de Pétri et sur un milieu de malt gélosé nous avons effectué une culture monoxénique de 10 femelles par boîte avec un des champignons (espèces et souches) suivants :

- Rhizoctonia solani isolé de laitue
- " " isolé de Coton

Et les champignons suivants qui sont isolés à partir du Coton :

- Fusarium Oxysporum
- Fusarium roseum
- Verticillium dahliae
- Geotrichum albidum

Les champignons sont cultivés dans les boîtes pendant 30 jours avant qu'ils soient inoculés avec les nématodes qu'on laisse se multiplier pendant 35 jours à la température du laboratoire. Les résultats présentés dans la figure 24-a (moyenne de 5 à 10 boîtes par souche) montrent que l'influence de l'espèce du champignon sur la multiplication du nématode est très grande et que le R. solani constitue un excellent hôte pour l'élever. CAUBEL et al. (1972) ont essayé d'élever ce nématode sur douze souches du R. solani isolées à partir des plantes suivantes : Laitue, Orge, Lin, Coton, Poivron, Chrysanthème, Chou-fleur, Iris, Pomme de terre, Radis, Tomate et Blé. La multiplication des populations varie suivant les souches que l'on peut classer, d'après l'analyse statistique, en 3 groupes (*) :

1er Groupe où le taux de multiplication est compris entre deux mille et 37 000 nématodes par boîte de Pétri. Ce groupe comprend les souches isolées à partir de Blé, Tomate, Radis, Pomme de terre, Iris, Chou-fleur et Chrysanthème.

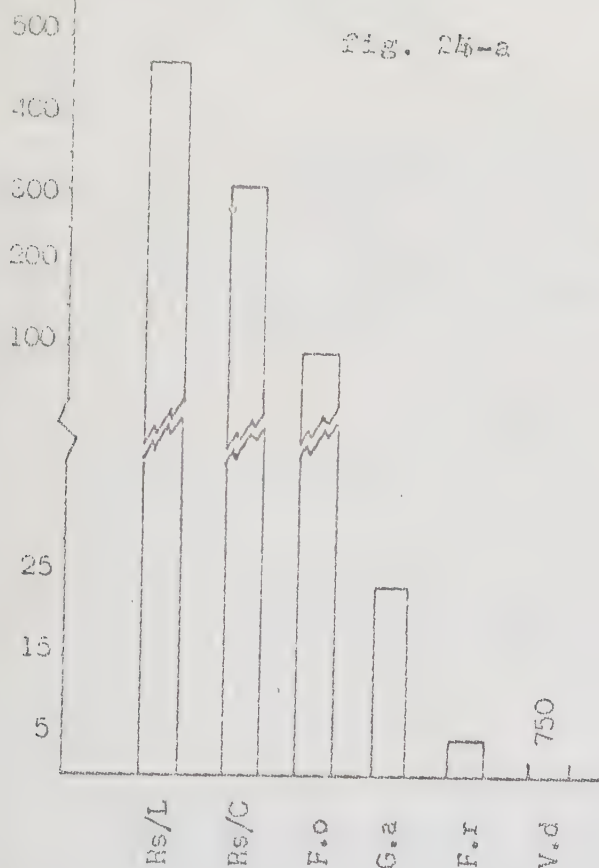
2e -Groupe où le taux de multiplication est compris entre 70 000 et 121 000 individus par boîte de Pétri. Ce groupe comprend les souches isolées à partir de Poivron, Coton et Lin.

3e Groupe où le taux de multiplication est de 145 500 individus par boîte pour la souche isolée de l'Orge et de 226 700 individus par boîte pour la souche isolée de la laitue.

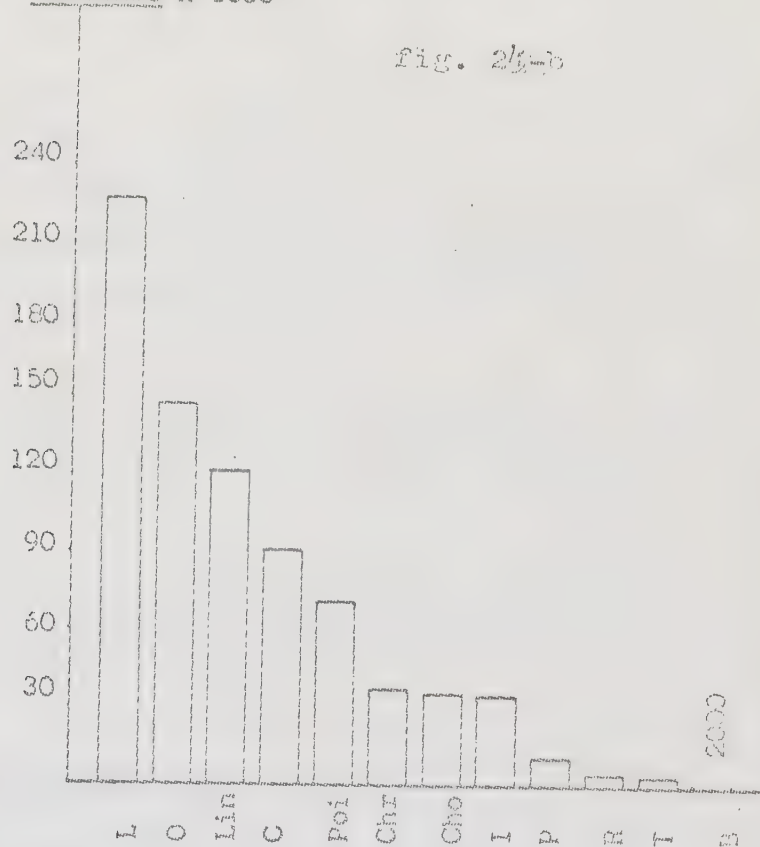
(*) - L'extraction est faite 1 mois après l'incorporation de 10 individus dans une jeune culture des souches de R. solani.

Fig. 24 - Influence du champignon (espèces et souches) sur le taux de multiplication de A. avenae en boîtes de Pétri .

Nbre moyen
A.avenae x 1000



Nbre moyen
A.avenae x 1000



Origine des souches de R.solani :

Rs/L : R.solani / Laitue
Rs/C : R.solani / Coton
F.o : Fusarium oxysporum
G.a : Geotrichum albidum
F.r : Fusarium roseum
V.d : Verticillium dahliae

L : Laitue
O : Orge
Lin : Lin
C : Coton
Poi : Poivron
Chr: Chrysanthème
Cho : Chou-fleur
P : Pomme de terre
R : Radis
T : Tomate
B : Blé
I : Iris

Les résultats de cette expérience sont présentés dans la figure 24 b.

2 - Choix du support de culture.

a) - Conditions stériles.

Trois supports de culture sont proposés ;

1 - Vermiculite. Une culture de R. solani isolée de laitue est préparée selon la technique décrite (page 25) et est inoculée 5 jours plus tard avec 10 nématodes.

2 - Pailles + malt. 16 g de paille sont coupés en petits morceaux et introduits dans une bouteille de lait de 1 litre puis passés à l'autoclave pendant une heure à 120° C. 24 heures après, 150 ml de malt liquide sont ajoutés et le milieu est passé à l'autoclave de nouveau pendant 20 mn à la même température. Ensuite R. solani, puis A. avenae sont inoculés selon le même schéma que précédemment.

3 - Pailles seules. La préparation est identique à la précédente mais le malt liquide est remplacé ici par la même quantité d'eau du robinet.

Les résultats sont présentés sur le tableau 32 et montrent que le dernier milieu de culture donne des résultats satisfaisants.

T A B L E A U 32

Résultats de la multiplication d'Aphelenchus avenae sur R. solani cultivé sur trois supports et milieux de culture différents dans les conditions stériles (moyen de 4 bouteilles).

Milieux et supports de culture	Nombre moyen d' <u>A. avenae</u> par bouteille
Vermiculite + malt	0,042 million
Pailles + malt	2,050 millions
Pailles + eau	2,192 millions

b) - Conditions semi-stériles.

Les pailles coupées en petits morceaux sont autoclavées deux fois à 120° C à 24 heures d'intervalle. Elles sont mises dans des sacs de plastique à raison de 200 g/sac et ensemencées avec R. solani/laitue ou Goetrichum albidum. Ce substrat est humidifié au préalable puis au cours de l'essai avec de l'eau du robinet. Un mois après, 500 larves de tous stades sont incorporées dans les cultures. Les sacs sont fermés et percés pour assurer une aération suffisante. Un prélèvement est effectué tous les 15 jours et au bout de 3 mois les animaux ne se sont pratiquement pas multipliés. On note la présence abondante des protozoaires et de bactéries.

c) - Conditions naturelles.

Une culture de chacun des deux champignons mentionnés ci-dessus avec la même quantité de nématodes est préparée dans des bacs de plastique placés dans la serre, les pailles non autoclavées sont humidifiées pendant les 3 mois de l'essai.

Après extraction des nématodes de cette culture, il apparaît, comme dans le cas précédent, que la population d'A. avenae ne s'est pas multipliée, mais on constate un développement important de bactéries, de protozoaires ainsi que d'autres espèces de nématodes de la famille de Rhabditidae (*).

3 - Conclusions.

Il semble que l'élevage en masse d'A. avenae ne réussisse que dans des conditions aseptiques même en présence d'un hôte excellent : R. solani. La présence de microorganismes, tels que des protozoaires, des bactéries et des nématodes bactériophages, dont les relations avec le mycéliophage A. avenae ne sont pas encore connues, semble lui être défavorable.

A. avenae se multiplie toujours plus rapidement sur R. solani que sur les autres champignons testés ; ce qui confirme les différents travaux qui sont faits dans ce domaine. Mais au sein de cette espèce il y a un choix assez important de souches qui sont morphologiquement identiques. Les résultats de l'élevage d'A. avenae sur les 12 souches de R. solani montrent donc, une fois de plus que

(*) - Ces types de nématodes, communs dans tous les substrats organiques, se nourrissent, au moins pour certaines espèces, de bactéries.

les relations trophiques entre ce nématode et son champignon-hôte n'est pas une simple question morphométrique. En revanche, les résultats, très hétérogènes, de l'élevage d'A. avenae sur Verticillium dahliae nécessitent de continuer l'élevage des individus qui semblent le mieux se multiplier sur ce champignon afin de savoir si, au niveau de cette espèce, il existe certaines souches spécifiques de ce champignon.

La multiplication d'A. avenae sur des champignons obligatoirement saprophytes vis-à-vis des végétaux tels que Gootrichum albidum, permet de penser qu'il doit être possible de l'élever en masse, en vue de son utilisation comme moyen de lutte contre des maladies telluriques sans aucun risque par la même occasion de propager des agents pathogènes.

E - ETUDES DES MODALITES D'APPLICATION DES NEMATODES EN LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE R. solani DE COTON.

Les seuls essais d'utilisation des nématodes mycéliophages pour lutter contre les maladies d'origine tellurique ont été réalisés par l'incorporation au sol, avant la mise en culture de plante-hôte (CAYROL (1971), ROY (1973), MANKAU (1973)). Certains chercheurs (KLINK et BARKER (1963), KLINK (1966)), ont préféré inoculer directement les semences avant le semis avec une quantité déterminée de nématodes apportés avec le champignon parasite. D'autres ont ajouté les larves d'A. avenae sur les racines des plantes (SCHINDLER et STEWART (1956). RHOADES et LINFORD (1959) luttent contre Pythium sp. attaquant les racines du Maïs, les semences étant placées dans des trous des pots contenant de l'inoculum, à raison de 125 000 nématodes par pot, de 15 cm de diamètre.

Nous avons voulu tester ces trois modalités, mais la localisation des nématodes à l'enplacement des graines de Coton n'a pas été retenue car elle a donné de mauvais résultats et n'est pas pratique. Nous avons donc comparé l'enrobage des graines de Coton et le traitement du sol avec les nématodes.

1 - Dispositif expérimental.

Les traitements suivants ont été comparés :

- apport des nématodes en enrobage des graines

1 - T1 + 1 000 N/G : terre infestée avec R. solani + 1 000 larves d'A. avenae par graine de Coton non désinfectée et non délintée.

- 2 - TI + 2 000 N/G : traitement identique au précédent mais la quantité de nématodes est égale à 2 000 larves par graine.
- 3 - TI + 3 000 N/G : idem
- 4 - TI + 4 000 N/G : idem
- 5 - TI + 5 000 N/G : idem

- Apport des nématodes en traitement du sol.

- 6 - TI + 5 000 N/P : terre infestée avec R. solani + 5 000 larves de A. avenae homogénéisées avec la terre d'un pot de 11 cm de diamètre.
- 7 - TI + 1 500 N/P : idem
- 8 - TI + 25 000 N/P : idem

- Trois témoins sont aussi préparés :

- 9 - TNI : terre non infestée
- 10 - TNI + 5 000 N/G : terre non infestée + 5 000 larves d'A. avenae apportées en enrobage des graines de Coton.
- 11 - TI : terre infestée avec du R. solani du Coton.

Pour l'ensemble des traitements, il est réalisé 6 répétitions constituées par 6 pots ensemencés chacun avec 5 graines de Coton. La terre est inoculée avec R. solani 5 jours avant le semis.

L'enrobage des graines non désinfectées et non décontaminées s'effectue avec la quantité de nématodes indiquée par traitement que l'on apporte dans 3 ml d'eau; ce volume correspondant à la quantité maximale absorbée sur 30 graines.

En ce qui concerne le traitement du sol, les nématodes d'abord mélangés avec 75 cm³ de perlite sont ajoutés à la terre de chaque traitement qui est, après homogénéisation, répartie en 6 pots.

Toutes les graines, préalablement imbibées par trempage dans de l'eau ou dans la suspension de nématodes, sont semées à raison de 5 graines par pot. Les arrosages sont effectués par capillarité, selon les besoins.

2 - Résultats.

Les observations au cours de l'essai portent d'une part sur la levée des plantes dès la germination, sur le nombre de plantes vivantes, en fin

d'essai et sur l'état sanitaire de celles-ci. Ces résultats sont figurés dans le tableau 33.

a) - Le pourcentage des graines levées après 10 jours, varie énormément avec la quantité et les modalités d'application.

L'analyse statistique montre qu'il n'y a pas de différences significatives pour les 5 meilleurs traitements entre eux, ni pour les autres traitements. La différence entre les traitements 4 000, 2 000 et 3 000 nématodes par graine n'est pas significative (figure 25 - 1).

b) - Plantules vivantes en fin d'essai.

Le tableau 33 montre comme précédemment d'importantes variations selon les traitements.

On note une grande diminution des fontes de semis de postémergence pour les traitements 5 000 et 4 000 nématodes apportés sur la graine qui diffèrent significativement de l'ensemble des autres traitements.

En outre, si on exclut les témoins non inoculés, on constate que les traitements avec 2 000 à 5 000 nématodes par graine réduisent la fonte des semis mieux que les autres. Enfin au seuil 1 % on remarque que les 2 témoins, identiques entre eux, diffèrent de l'ensemble des traitements (figure 25 - 1).

c) - Intensité de la maladie.

L'intensité de la maladie, exprimée par "l'indice de maladie" définie précédemment (P. 19-20) est calculée après arrachage des plantules ; les observations montrent que l'état sanitaire est d'autant meilleur que la dose des nématodes apportée est plus élevée (figure 25 - 2).

d) - Poids frais total des plantules.

La pesée des plantes en fin d'essai indique un effet net des traitements qui ont un classement très proche de celui observé d'après l'intensité de la maladie. Les poids moyens des plantules, exprimés en grammes pour chaque traitement sont figurés dans la figure 25 - 3.

TABLEAU n° 33

Influence d' Aphelenchus avenae appliqué en traitement de semences
et de sol sur l'attaque de Rhizoctonia solani.

Notations	terre non infestée		Terre infestée avec R. solani										Analyse statistique		
	5000 N/G (1)	0 N	5000 N/G	4000 N/G	2000 N/G	3000 N/G	1000 N/G	15000 N/P (2)	0 N	25 000 N/P	5000 N/P	± F	Significa- tion	ppds 5 %	
Plantes levées	nombre moyen par pot	5	4,83	4,33	3,83	3,5	2,66	2,33	2,33	2,33	2	1	3,3	S	1,7
	%	100	97	87	77	70	53	47	47	47	40	20	-	-	-
Plantes récoltées	nombre moyen par pot	5	4,83	3,16	3,16	2,33	2,33	1,5	1,5	1,16	0,5	0,5	3,8	S	1,98
	%	100	97	63	63	47	47	30	30	23	10	10	-	-	-
frais les p	moyenne en gr.	12,16	11,66	8	7,5	6,83	7	3,83	5	3,83	1,33	1,5	22,10	HS	2,13
Intensi- s de la maladie	note 0-100	11,33	10,66	58	59,33	66	71,33	78	76	83,33	88,66	92	-	-	-

± F théorique au seuil 5 % est 2,02

(1) 5 000 N/G - nombre de nématodes apportés en enrobage de graines .

(2) 15 000 N/P - " " " en mélange avec la terre d'un pot .

3 - Estimation de l'arrière-effet de ces traitements.

Un deuxième semis est fait 51 jours après le premier. Les résultats de la levée des graines montrent que l'incidence sur les fontes de semis en pré-émergence est grandement diminuée de telle sorte que la différence entre les neuf traitements, dont les témoins inoculés et non-inoculés, n'est pas significative et que la diminution de la germination pour les deux traitements suivants : 3 000 N/G et 15 000 N/Pot, par apport aux autres traitements, n'est due ni au parasite, ni aux nématodes. On note le même effet non significatif sur le nombre de plantules vivantes en fin d'essai et sur l'intensité de la maladie, toutefois les traitements se classent selon un ordre différent mais restent non significativement différents entre eux.

4 - Conclusions.

A partir des données de cet essai, il apparaît que :

1° - l'addition de 5 000 larves d'A. avenae concentrées sur une seule graine de Coton n'altère pas sa faculté germinative. Les plantules se développent apparemment sans attaque consécutive à ces nématodes, de plus cet enrobage assure un léger avantage mais non significatif, par apport aux semences semées dans une terre non infestée et non enrobées avec les nématodes.

2° - l'enrobage des graines semées dans une terre artificiellement inoculée protège très efficacement les plantules de Coton contre l'attaque du R. solani, avant et après la levée. La dose efficace pour ce traitement est d'environ de 4 000 à 5 000 larves par graines, il pourrait même être intéressant d'expérimenter des doses plus élevées (la levée passe de 47 % à 87 %, le pourcentage de plantules survivantes de 23 % à 63 % et l'intensité de maladie diminue de 83 % à 58 %).

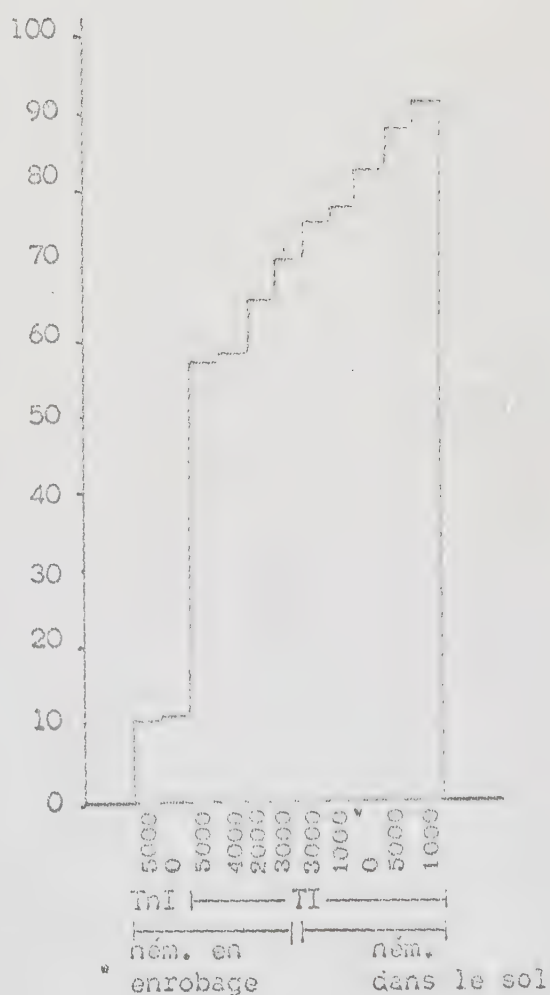
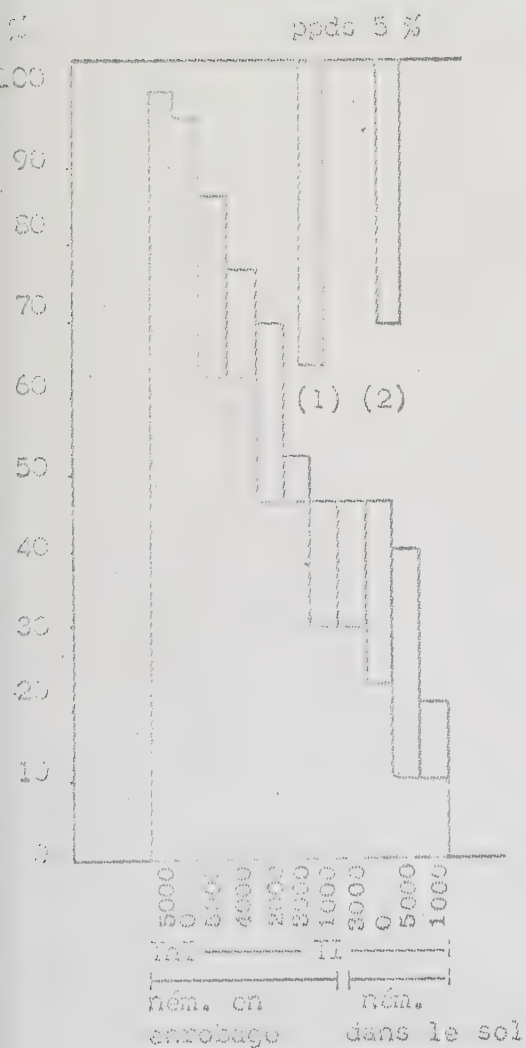
3° - L'incorporation d'une quantité de nématodes dans un volume donné de terre en vue d'un traitement du sol est beaucoup moins efficace qu'un apport correspondant en enrobage des graines. Ainsi par exemple, avec 25 000 N/Pot le pourcentage des plantules survivantes est de 10 % alors qu'avec 5 000 N/graine elle est de 63 %. L'effet de ces nématodes incorporés dans le sol infesté artificiellement avec R. solani juste avant le semis est pratiquement nul par rapport au témoin inoculé et sans nématode.

4° - nous ne pouvons pas conclure d'une façon précise sur l'arrière-effet de l'incorporation des nématodes au niveau du sol, soit en enrobage des

Fig. 25. - Influence des différentes doses de A. avenae, apportées soit en enrobage de graines, soit dans le sol, sur les attaques de R. solani.

I - sur le pourcentage de plantules levées et de plantes récoltées.

II - sur l'intensité de la maladie .(note de 0 à 100)

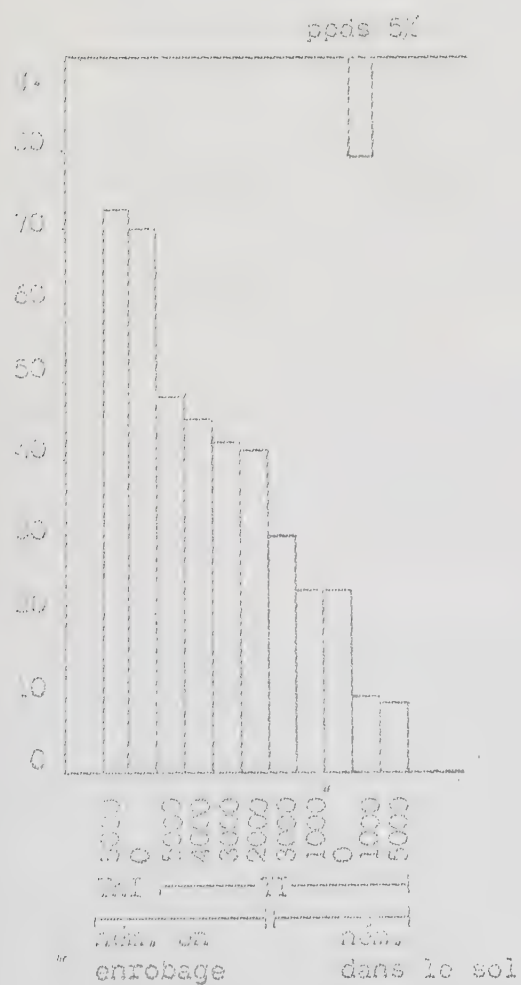


(1) : plantules levées

(2) : plantes récoltées .

Fig. 25 suite

III - sur le poids frais total des plantes récoltées .



graines, soit en traitement du sol, à cause de phénomène de mycostase observé sur R. solani et qui se manifeste par la réduction des fontes de semis avant et après la levée dans le témoin inoculé et la diminution de l'intensité de maladie notée après l'arrachage des plantules.

F - ETUDE DES POSSIBILITES D'UTILISATION COMBINEE DES SUBSTRATS ET DES NEMATODES.

DECKER (1962) constate que la quantité de matière organique intervient sur l'importance des populations de nématodes en général. Cependant, MANKAU (1962) compare plusieurs types de matières organiques et conclut que la population d'A. avenae se multiplie abondamment dans le fumier et dans un compost à base de Luzerne ; toutefois cette multiplication est, par la suite, suivie d'une baisse de population de nématodes. Plus généralement, les substances organiques qui se décomposent rapidement multiplient le nombre de nématodes mycophages. Comme nous avons également tenté de lutter biologiquement par l'utilisation des substrats nutritifs, il nous a semblé intéressant, d'associer le mycéliophage A. avenae et un substrat qui s'est révélé intéressant, cas de la farine de Soja (FS). Nous avons apporté ce substrat en enrobage des graines du Coton selon des quantités en relation avec le poids de semence, associé ou non avec différentes doses de nématodes.

1 - Dispositif expérimental.

Les traitements comparés sont résumés dans le tableau 34.

TABLEAU 34

Quantité de farine de Soja	Nombre de nématodes par graine							
	0	500	1 000	5 000	3 000	6 000	9 000	15 000
0	×	×	×	×	-	-	-	-
P/10	×	×	×	×	-	-	-	-
2/3 P	-	-	-	-	×	×	×	×
P	×	×	×	×	-	-	-	-

× : traitement retenu

P : poids de substrats égal au poids de graines.

P/10 : " " au 1/10e de poids de graines.

2/3 P : " " aux 2/3 de poids de graines.

L'essai comprend, en outre, un témoin non inoculé (TII). La terre est infestée artificiellement avec R. solani de Coton juste avant le semis. L'enrobage est fait au moyen d'une pâte de Carboxyl méthyl-cellulose dans le but de donner une certaine consistance mais qui, à l'usage, ne semble pas indispensable puisque les poils des graines peuvent retenir les quantités de farine utilisées.

Le semis s'effectue à raison de 5 graines de Coton, non délintées et non désinfectées par pot de 11 cm de diamètre.

2 - Résultats (voir planche n° 16).

Les notations portées sur la levée des plantes, les plantules récoltées, le poids frais de plantules, et l'intensité de la maladie figurent dans le tableau 35. L'analyse statistique a été effectuée simultanément sur les doses de nématodes apportés et sur les différentes concentrations de substrats. Cette analyse montre que les différences, d'une part, entre les doses de nématodes, sont significatives et d'autre part, entre les trois doses de la farine de Soja, et que l'action de ces deux traitements sur la maladie s'oppose (Figures 26, 27 et 28).

Les résultats obtenus, quand la farine de Soja est apportée à raison des $\frac{2}{3}$ du poids de graines, montrent que les différences existant entre les doses de nématodes sont significatives au seuil de 1 %, indiquant qu'un apport trop important d'A. avenae perturbe la levée des graines de Coton (Figure 29).

3 - Discussion.

1. La virulence de R. solani dans cet essai n'était pas suffisante pour causer une attaque importante des plantules avant et après la levée, ce qui explique l'absence de différence significative entre les traitements où les graines de Coton n'ont pas reçu de la farine de Soja (Figure 26 et planche n° 16-1).

Mais cette virulence n'est pas négligeable lorsqu'on note l'intensité de la maladie qui est responsable de la formation des nécroses plus ou moins graves et de la mort des plantules (Figure 28).

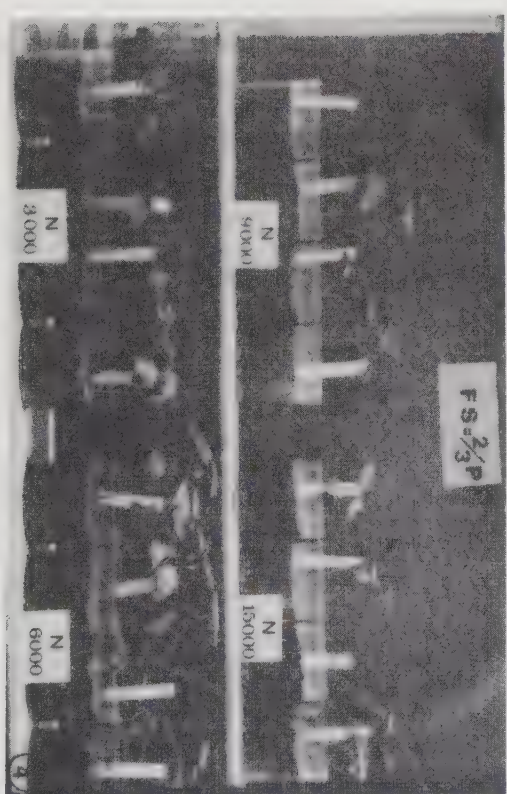
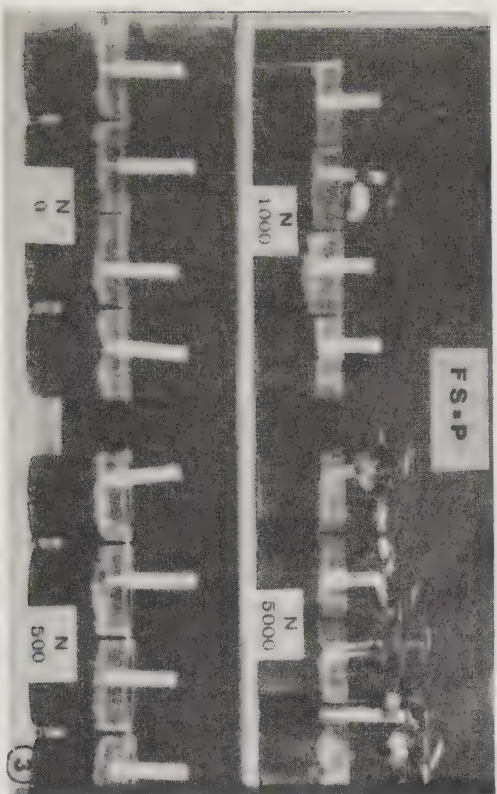
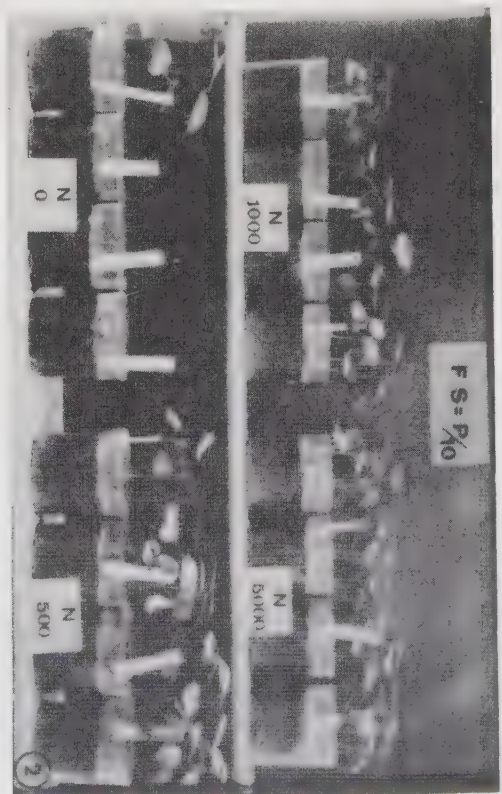
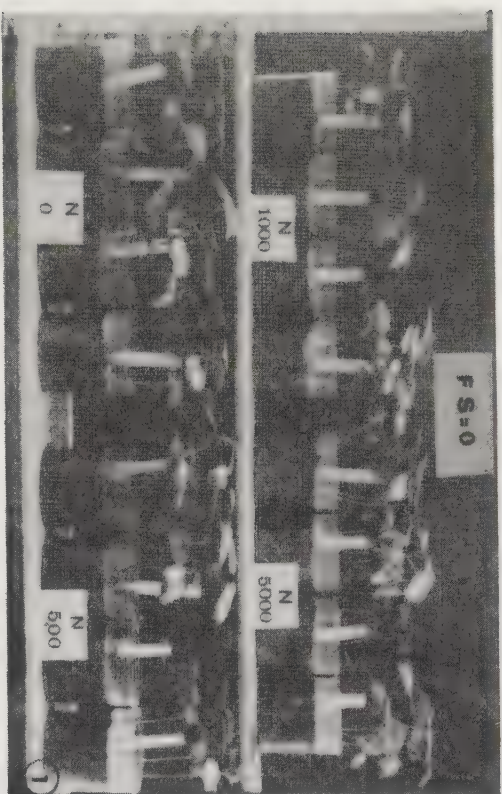
2. La farine de Soja, se trouvant autour des graines a favorisé les fontes de semis d'autant plus que la dose apportée augmente.

Planche n° 16

Action de "l'enrobage" des graines de Coton par A. avenae sur les fontes de semis dûes à R. solani.

1.2.3. Action comparée des "doses" 0,500, 1000 et 5000 nématodes par graine de Coton, associée ou non à un enrobage au moyen de farine de Soja (FS).

1. Pas de farine de Soja .
2. Poids de FS au 1/10 en poids de graines .
3. Poids de FS égal au poids de graines .
4. Action comparée des doses 3000, 6000, 9000, 15000 nématodes en présence d'un poids de farine de Soja égal au 2/3 de celui des graines .



Influence d'Aphelenchus avenae associé avec de la farine de Soja sur l'attaque de Rhizoctonia solani.
Les deux éléments sont appliqués en traitement de semences.

NOTATIONS	Terre infestée avec R. SOLANI																
	Terre non infestée	Sans farine de Soja		P/10			P			2/3 P							
		0	500	1000	5000	0	500	1000	5000	0	500	1000	5000	3000	6000	9000	15000
Plantes levées	4,5	3,75	4,25	4,25	5	1,75	4	4,25	4,75	0	0,5	1,5	4,75	3,75	2	1,75	2,5
%	90	75	85	85	100	35	80	85	95	0	10	30	95	75	40	35	50
Plantes récoltées	4,5	3,25	3,25	4,25	4,75	0,75	3,5	4	4,5	0	0	0,25	4,75	3,25	2	1,5	1,5
%	90	65	65	85	95	5	70	80	90	0	0	5	95	65	40	30	30
P. frais des plantes	6,25	6,3	6,5	6,5	7,5	1,12	6,75	6,25	6	0	0	1	8,5	7	5	4,12	3
Intensité de la maladie	10	39	46	26	14	89	44	34	21	100	97	90	15	34	64	69	66

3. L'augmentation de la dose de nématodes diminue d'autant la gravité de la maladie que l'on considère la levée, le pourcentage de plantules vivantes ou l'intensité de la maladie. En présence de la plus forte dose de farine de Soja (P), un apport de 5 000 larves par graine donne un résultat identique à celui obtenu en sol non infesté (Figure 26, planche n° 16-3).

4. Si la dose dépasse 6 000 et ce jusqu'à 15 000 nématodes par graine, le phénomène s'inverse curieusement et laisse supposer que la dose optimale de nématode se situe vers 5 000 nématodes par graine.

5. Il est possible que la très forte concentration des nématodes autour des graines cause un certain dommage à la plantule que l'on peut expliquer comme KLINK and BARKER (1968) par : une pénétration des nématodes dans les tissus tendres ce qui limite alors la nutrition de la plante. Il est possible également que les excréments des animaux soient nocives pour les graines en germination.

Il serait intéressant de préciser ce point en l'absence de R. solani aussi bien sur sol non inoculé qu'en cultures stériles.

G - DISCUSSION-CONCLUSION SUR L'UTILISATION D'Aphelenchus avenae.

A la lumière des résultats exposés précédemment, il nous semble que la lutte contre les fontes de semis du Coton dues à R. solani, au moyen d'A. avenae soit possible. Deux facteurs importants conditionnent l'efficacité de cette méthode de lutte biologique : le nombre et la localisation des nématodes.

De très bons résultats ont été obtenus en appliquant les nématodes en "enrobage" de semences à la dose moyenne de 4 000 à 5 000 individus (larves) par graine, mais il est possible que, dans la pratique, en présence d'un inoculum moins abondant, des quantités plus faibles soient suffisantes. Des doses très élevées (6 000 à 15 000) risquent de gêner la croissance des plantules de Coton sans toutefois qu'il y ait de véritable action parasitaire.

Pour être efficaces, il est indispensable que les nématodes soient apportés à proximité même des plantules à protéger. L'application des nématodes en traitement des graines constitue une solution intéressante qui comporte divers avantages pratiques (bonne retenue des nématodes par les graines non délintées, facilité d'application, etc.).

Cependant différents problèmes sont à résoudre avant la mise en application d'une telle méthode de lutte. Ils concernent la production en "masse" de nématodes et leur conservation.

Nos essais ont montré que la multiplication du nématode, qui ne se réalise bien qu'en conditions aseptiques, dépendent en grande partie de l'espèce et même de la souche de champignon utilisée à cet effet. Les meilleurs taux de multiplication sont obtenus sur certaines souches de R. solani, mais l'idéal serait de pouvoir utiliser pour l'élevage d'A. avenae, des saprophytes obligatoires. Une étude plus approfondie des relations trophiques champignons-nématodes serait souhaitable, car un certain nombre de données manquent encore pour envisager avec un maximum de succès, la mise au point d'une véritable technique d'élevage en masse qui soit, techniquement et économiquement, réalisable.

D'un point de vue pratique, les possibilités de conservation des nématodes (donc de stockage) constitue également un important problème. Nous avons pu recueillir un certain nombre d'indications sur les conditions à rechercher pour assurer la survie des nématodes mais les données actuelles demeurent insuffisantes et des essais complémentaires restent indispensables.

Enfin, au même titre que les champignons, A. avenae peut être une espèce hétérogène dont les propriétés peuvent varier d'une souche à l'autre. Il est donc utile de rechercher les souches qui, par l'ensemble de leurs propriétés (efficacité, aptitude à l'élevage sur des champignons saprophytes, possibilités de survie, etc.) sont les plus intéressantes.

En définitive, il apparaît que la lutte biologique contre R. solani, par l'utilisation d'A. avenae offre des perspectives intéressantes mais que sa mise en application nécessite au préalable un certain nombre de recherches de diverses orientations.

Fig. 26 - Influence des traitements Farine de Soja et Nématodes en enrobage des graines sur les attaques de R. solani

- en blanc : pourcentage de plantules levées .
- en noir : pourcentage de plantes vivantes en fin d'essai .

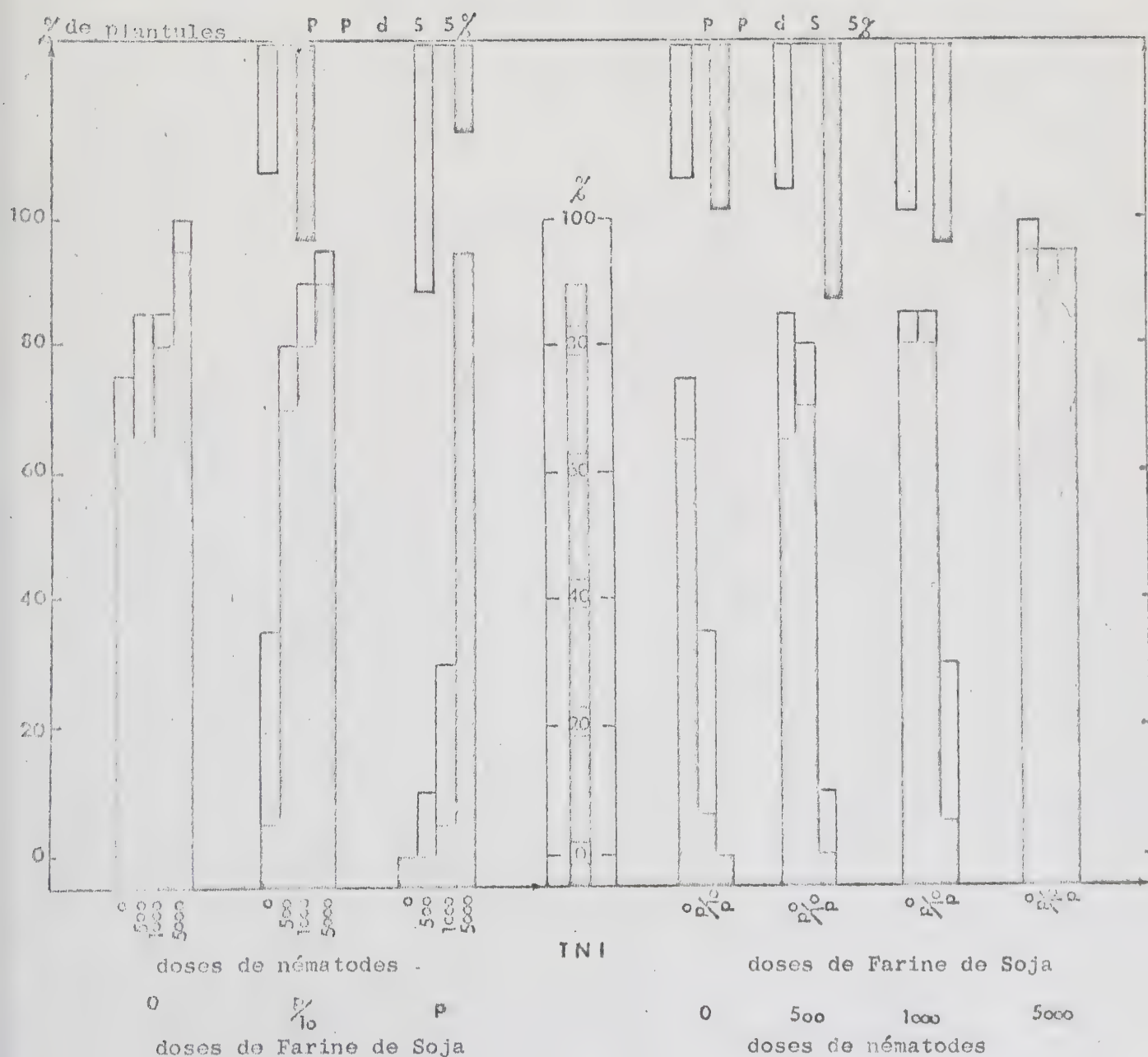


Fig.27 - Influence des " traitements " Nématodes et
Farine de Soja appliqués en enrobage des graines
sur le développement des plantules .
Poids frais moyen en gramme par pot des plantes
récoltées .

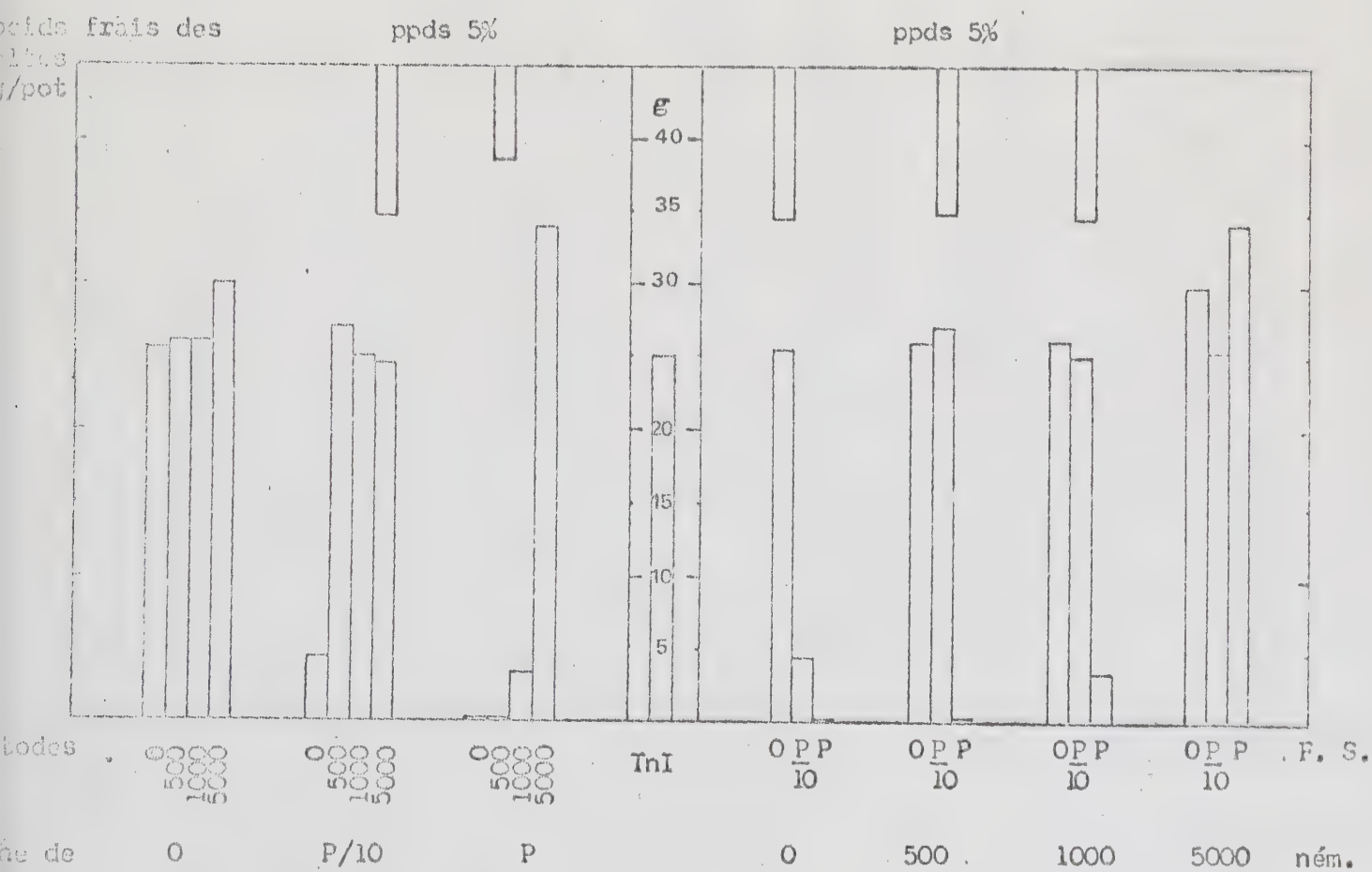


Fig. 28 - Influence des " traitements " Nématodes et
Farine de Soja appliqués en enrobage des graines
sur l'intensité des attaques de R. solani
(note pouvant aller de 0 à 100).

Intensité de la
maladie

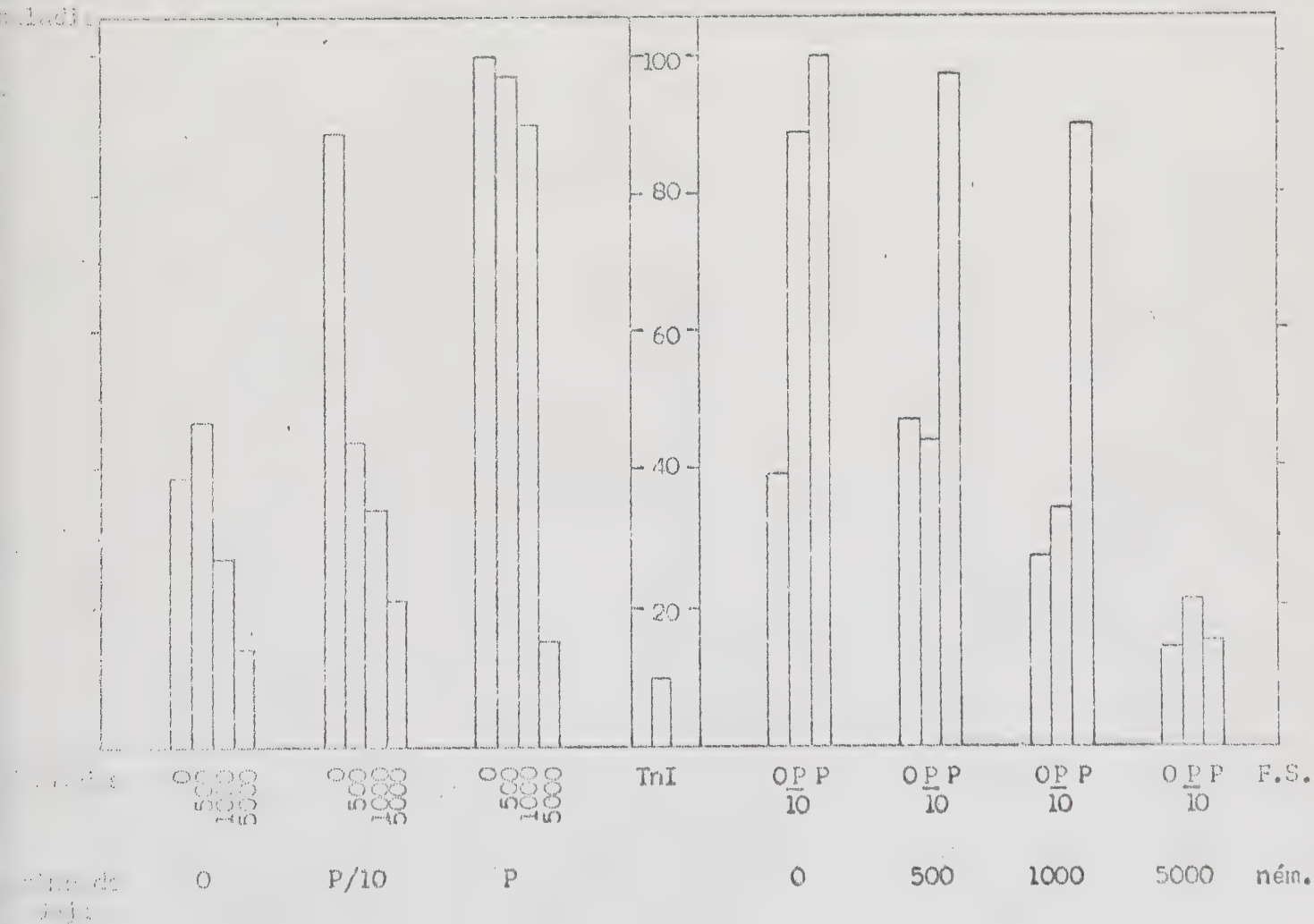
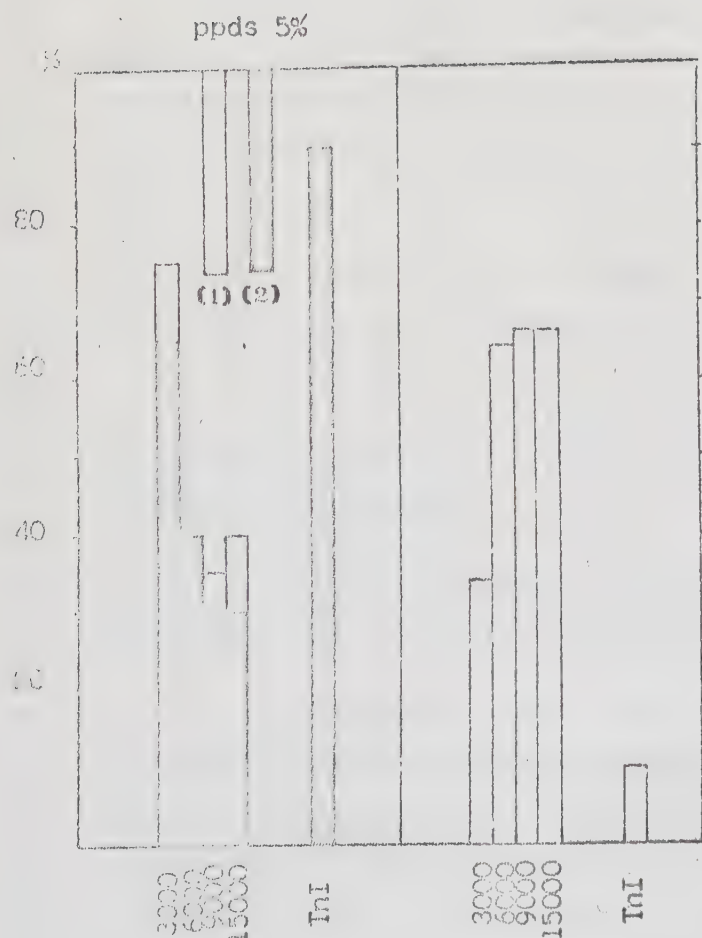


Fig. 29 - Influence de doses élevées de nématodes (3 000 à 15 000)
sur le comportement de plantules de Coton en terre
infestée par R. solani .



% de plantules

(1) levées et de

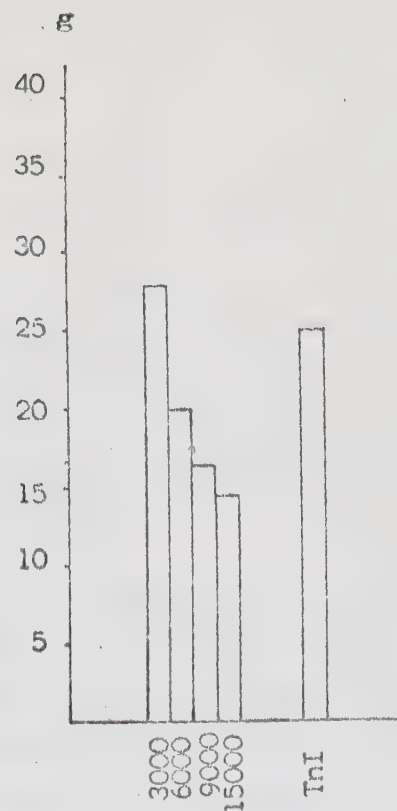
plantes vivantes(2)

à la récolte .

Intensité de la

maladie

(note 0 - 100)



Poids frais en g / pot

des plantules à la

récolte .

CONCLUSION GENERALE

Nous avons vu l'importance de la culture du Coton dans l'économie de la Syrie. Le développement des attaques parasitaires et principalement l'extension de la maladie dite "fonte des semis" sont une menace très grave qui pèse sur la production du Coton.

Nous avons isolé, par la technique des "appâts", plusieurs champignons dont un du genre Pythium qui paraît redoutable lors des semis à température relativement basse. La graine est détruite avant la levée. Cependant ce champignon n'a pas été signalé en Syrie jusqu'à présent parmi les agents responsables de la fonte des semis du Coton.

Un autre parasite, Rhizoctonia solani est plus souvent rencontré, notamment au mois d'avril où la température moyenne du sol dans les 20 premiers centimètres atteint 18° C. Il provoque alors la fonte des semis par attaque de la plantule, qui est particulièrement vulnérable pendant les 3 premières semaines de la levée.

La lutte chimique, toujours en Syrie, par l'emploi de plusieurs produits chimiques comme traitement de semences ne semble pas satisfaisante.

Nous avons alors recherché dans la lutte biologique, des techniques possibles de protection des graines et des plantules contre l'attaque des champignons phytopathogènes.

Une première technique repose sur l'intervention possible d'une microflore tellurique contre le développement du parasite.

En utilisant, entre autre, la technique des lames-pièges, nous avons pu isoler et identifier Rhizoctonia solani comme agent principal de la fonte des semis. L'étude biologique au laboratoire nous a permis de déterminer le stade critique pour la plantule, qui se situe dans les 15 premiers jours suivant le semis. Nous avons alors montré que l'incorporation au sol de substrats organiques variés, modifiait les équilibres microbiens du sol et dans certains cas protégeait les plantules. Il est apparu que certains substrats à base de protéines sont plus efficaces que les substrats cellulosiques, à conditions de les incorporer au sol, au moins 30 jours avant le semis. La modification de

la flore tellurique ne semble pas tant porter sur des variations significatives des groupes physiologiques bactériens mais laisse supposer l'intervention des Actinomycètes et des bactéries chitinolytiques sur l'activité de R. solani. Les résultats obtenus, dans leur ensemble, présentent un intérêt certain. Particulièrement, le tourteau de Soja, employé à la dose de 1 % par rapport à la terre, et incorporé 2 mois avant le semis s'est montré efficace en stimulant des Actinomycètes du genre Streptomyces qui semblent jouer un rôle déterminant dans la destruction du mycelium, et dont on connaît par ailleurs les propriétés chitinolytiques. Cette constatation permet de supposer que d'autres substrats, à base de chitine, pourraient conduire à une réduction des attaques de R. solani.

Nos résultats ne pouvant pas être transposés immédiatement dans la pratique, sans de nouvelles études réalisées en pleine terre et dans les conditions qui prév. lent en Syrie (nature du sol, type de culture, climat, etc.)

Dans une deuxième étude nous avons essayé l'emploi d'un nématode mycéliophage Aphelenchus avenae, contre le champignon Rhizoctonia solani. Deux conditions étaient à préciser : d'abord, la technique de culture du nématode, puis, la technique pratique des modalités d'application du nématode en lutte biologique.

Nous avons réalisé une technique de culture en masse de A. avenae, en présence de l'hôte R. solani, dans des conditions aseptiques. D'autres champignons saprophytes, par exemple Geotrichum albidum, sont moins favorables pour cette culture que R. solani, mais on peut penser que la multiplication du nématode par culture sur champignons saprophytes permet d'éliminer le risque de propagation des agents pathogènes.

L'application du nématode en enrobage des semences à la dose moyenne de 4 000 à 5 000 individus s'est révélée efficace. A une densité plus grande, la présence des larves semble gêner la levée des plantules de Coton, sans qu'il y ait toutefois une véritable action parasitaire.

Les graines non délintées retiennent mieux les nématodes.

Cependant, différents problèmes sont encore à résoudre avant la mise en application d'une telle méthode de lutte, en particulier la production en masse des nématodes et leur conservation. Nous avons réussi à conserver une population dense d'A. avenae pendant plus de 7 mois

Nous nous sommes demandé si la combinaison de ces deux techniques de lutte pouvait améliorer les résultats. Nous nous sommes limités à un essai préliminaire en enrobant en même temps les graines de Coton dans une suspension de nématodes en présence de farine de Soja, et cela à doses variées. Les résultats ne sont pas favorables. Il nous est apparu que les nématodes agissaient favorablement sur la levée et la croissance des plantules, alors que la farine de Soja, appliquée ici au moment du semis avait un effet très néfaste. Avant de conclure sur l'emploi simultané des deux techniques de lutte, il faudra reprendre des essais selon d'autres modalités d'application.

Finalement, les résultats expérimentaux que nous avons exposés dans notre mémoire, s'ils sont encourageants et semblent justifier les espoirs que l'on met dans la lutte biologique, ces résultats devront être confirmés par une expérimentation au champ, dans les conditions naturelles. Tout un programme de recherche devra être envisagé, s'appuyant sur les données nouvelles que nous avons apportées pour étudier les modalités pratiques de mise en oeuvre de ces méthodes de lutte biologique. Ce faisant, nous n'oublierons pas que d'autres facteurs importants conditionneront ces possibilités de lutte : prix de revient, adaptation aux habitudes de culture. En ce qui concerne, par exemple le prix de revient, l'incorporation de substrats protéiques fournit un apport d'azote qui permettrait de diminuer alors les dépenses engagées dans l'utilisation des engrais azotés.

- A 1 -

INDICATIONS SUR LA COMPARAISON CHIMIQUE DES SUBSTRATS UTILISES (1).

Compositions	(*) TS %	(*) FS %	(**) TCD %
Humidité	6	10	10
Mat. grasses (hexane)	1	19,5	0,5
Mat. protéiques	52	36	41
dont { albumines	56	69	
{ globulines	10	11	
{ glutéines	31	18	
{ Insol. azoté	3	2	
Phosphatides	2	2	
Mat. minérales	6	5	6
dont { k	0,43		
{ Ca	0,12		0,25
{ Mg	0,29		
{ p	0,27		
{ Cl	0,78		1,20
Cellulose	3	4,7	11
Extraits non azotés :	30	22,8	
dont { saccharose	30		
{ stachyose	20		
{ raffinose	10		
{ pentosanes	20		
{ galatanes	20		

(*) - S.F.P.S. (Société française des Produits du Soja).

(**) - Bases techniques de la production porcine Série 1-1970.

(1) - Nous n'indiquons pas ici la nature de la poudre d'Algue, sa composition étant tenue secrète par le producteur.

- A 2 -

SOLUTION NUTRITIVE POUR CULTURE

"BLANC"

Pour un litre de solution :

1 cc d'une solution de sulfate de magnésium 2 N (240g/litre)
4 cc d'une solution de nitrate de calcium 2 N (164 g/litre)
1 cc d'une solution de phosphate monopotassique 2 N (272g/litre)
3 cc d'une solution de nitrate de potassium N (101 g/litre)

0,2 cc d'une solution renfermant par litre :

acide borique	3 g
sulfate manganèse	3 g
sulfate de zinc	4,5 g
sulfate de cuivre	1 g
molybdate d'ammonium	0,5 g

0,4 cc d'une solution de citrate de fer à 1 %

Eau distillée q.s.p. 1 000 cc

Ajouter le pH à 6,5 environ.

=====

- A 3 -

ETUDE DE LA FLORE FONGIQUE
MILIEU A L'EXTRAIT DE MALT.

Extrait de malt	20 g
Gélose	20 g
Eau distillée	1 000 ml

(100 ml par erlen pour 5 boîtes)

Ajouter au moment de l'emploi 1 ml de dilution de terre par erlen de 100 ml de malt, 0,5 ml d'une solution stérile d'acide citrique à 10 %.

ETUDE DE LA FLORE BACTERIENNE
GELOSE POUR NUMERATION DES GERMES TOTAUX (G.N.)

Peptone	6 g
Extrait de levure	3 g
Gélose	20 g
E.D.	1 000 ml

pH : 7,2

ETUDE DE LA NUMERATION DES ACTINOMYCETES
MILIEU "CHITINE"

Chitine soluble	2 g
Gélose	15 g
E.D.....q.s.p.	1 000 ml

Ajouter à pH : 8,9

Préparation de la chitine :

- Broyer la chitine au mixer
- Tamiser
- Peser 10 g
- Ajouter 1 000 ml eau approximativement
- Porter à ébullition pendant 1 heure
- Laisser déposer
- Décanter

On estime que dans le surnageant il y a 2 g de chitine pure.

- Compléter à 1 000 ml avec de l'eau
- Ajouter 15 g de la gélose

pH : 8-9

B I B L I O G R A P H I E

- ALLIX A. et GIBERT A., (1966). Géographie des textiles. Editions Génin, librairie de Médecins, Paris, 564 p.
- BAKER R. and SHIRLEY M., NASH, (1965). Ecology of plant pathogens in soil. VI. Inoculum density of Fusarium solani F. sp. Phascoli in bean rhizosphere as affected by cellulose and supplemental nitrogen. Phytopathology, 55 (12), 1381-1382.
- BAKER R., (1968). Mechanisms of biological control of soil-borne pathogens. Annual review of Phytopathology, 6, 263-294.
- BARKER K.R., (1963). Parasitism of tobacco callus and Kentucky bluegrass by Aphelenchus avenae. Phytopathology, 53, (8), 870 abstract.
- BARKER K.R., (1965). Reproduction of Aphelenchus avenae on plant tissues in culture. Nematologica, 11, 162-166.
- BARKER K.R., (1966). Cellulytic and pectolytic enzymes in Aphelenchus avenae. Nematologica, 12, 88.
- BARKER K.R., FLENTJE N.T., OLSEN C.M. and STRETTON H.M., (1967). Effect of antagonists on growth and survival of Rhizoctonia solani in soil. Phytopathology, 57, (6), 591-597.
- BOOSALIS M.G., MANKAU R., (1965). Parasitism and predation of soil microorganisms. in "Ecology of soil-borne plant pathogens". Edited by BAKER K.F. and SNYDER W.C., Univ. of California Press. Berkeley, Los Angeles, 374-391.
- CAUBEL G., BOSSIS M., et Marie-Thérèse SANSON, (1972). Observation sur l'élevage monoxénique "in vitro" de nématode mycophage Aphelenchus avenae sur diverses souches de Rhizoctonia solani. Ann. de Phytopath. 4, (4), 411.
- CAYROL J.C., (1967). Etudes préliminaires des relations entre quelques champignons pathogènes des végétaux et deux espèces de nématodes mycophages : Ditylenchus myceliophagus, J.B. GOODEY et Aphelenchoides composticola, M.T. FRANKLIN, 1957. Ann. Epith., 18, (3), 317-329.
- CAYROL J.C., (1970a). Action des autres composants de la biocénose du champignon de couche sur le nématode mycophage, Ditylenchus myceliophagus, J.B. GOODEY, 1958, et étude de son anabiose : forme de survie en conditions défavorables ; IIe partie. Rev. Ecol. Biol. Sol., VII, (4), 409-440.
- CAYROL J.C., (1970b). Contribution à l'étude de la biologie du nématode mycophage Ditylenchus myceliophagus J.B. GOODEY, 1958 (Nematoda Tylenchida). Thèse Sc. Nat. Fac. Sc. Univ. Nice, 177 p.
- CAYROL J.C., (1971). Rôle des nématodes dans l'équilibre biologique des sols. Influence des traitements nématicides. 66-142 p. in "Les nématodes des cultures" ACTA-FNGPC. Paris 1971.
- CHAMI A.R., (1965). Les grandes cultures , II. Département des livres et des imprimés universitaires. Fac. Agron. ALEP. R.A.S. (Arabe).

- CHAMI A.R., (1971). Lutte contre la Verticilliose du Coton en Syrie, création d'un cultivar tolérant (ALEP 1). Thèse de Docteur-Ingénieur, Univ. Toulouse, 52 p.
- CHEVALIER A. et SENAY P., (1954). Que sais-je ? "Le Coton". Presses universitaires de France, Paris, 127 p.
- COLENO A., (1973). Contribution à l'étude taxonomique de quelques Pseudomonas phytopathogènes. Thèse Sc. Nat. Fac. Univ. Rennes, 142 p.
- COOPER et al., (1956). Nématode reproduction in environments of fluctuating aeration. Nematologica, 2 (2), 182-188.
- COOPER A.F., VAN GUNDY S.D., (1971). Senescence, quiescence, and cryptobiosis in "Plant Parasitic Nematodes". V. II. Edited by B.H. ZUCKERMAN W.F. MAI, and R.A. RHODE. Academic Press New-York and London.
- DAVEY C.B., and PAPAIVIZAS G.C., (1960). Effect of dry mature plant materials and nitrogen on Rhizoctonia solani in soil. Phytopathology, 50, (7), 522-525.
- DECKER H., (1962). Zur biologie und ökologie von Aphelenchus avenae Bastian. Nematologica, 7, (9), abstract.
- DHINGRA O.D. et KHARE M.N., (1973). Biological control of Rhizoctonia bataticola on urid bean (Phaseolus mungo). Phytopathology, Z., t., 76, (1), 25-29.
- DODMAN R., and FLENTJE H.T., (1970). The mechanisms and physiology of plant penetration by Rhizoctonia solani in "Rhizoctonia solani: Biology and Pathology", 149-160. Edited by JOHN R. PARNETTER, Jr. Univ. California Press., Berkeley, Los Angeles and London.
- DONCASTER C.C., (1971). Feeding in plant parasitic nematodes : Mechanisms and behavior in "Plant Parasitic Nematodes". Edited by B.H. ZUCKERMAN W.F. MAI and R.A. RHODE. Academic Press New-York and London.
- DUTKY S.R., THOMPSON J.V. and GEORGE E., (1964). A technique for the mass propagation of the DD - 136 nematode. Journal of insect pathology, 6, (4), 417-422.
- EVANS A.A.F., FISHER J.M., (1970). Some factors affecting the nombre and size of nematodes in populations of Aphelenchus avenae. Nematologica, 16, 295-304.
- EVANS A.A.F., THOMASON I.J., (1971). Ethylene dibromide toxicity to adults larvae and moulting stages of Aphelenchus avenae. Nematologica, 17, 243-254.
- FISHER J.M., EVANS A.A.F., (1967). Penetration and feeding by Aphelenchus avenae. Nematologica, 13, 425-428.
- FISHER J.M., (1969). Investigations on fecundity of Aphelenchus avenae. Nematologica, 15, 22-28.
- FISHER J.M., (1972). Observations on the effect of males on reproduction and fecundity of Aphelenchus avenae. Nematologica, 18, 179-189.

- FLENTJE N.T., (1965). Pathogenesis by soil fungi in "Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens". 255-268. University of California Press, Berkeley, Los Angeles.
- GARRETT S.D., (1956). Biology of root-infecting fungi. Chapitre I. University Press, Cambridge, 293 p.
- GARRETT S.D., (1965). Toward biological control of soil-borne plant pathogens. In "Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens". 4-17. Edited by BAKER K.F. and SNYDER W.C. Univ. of California Press. Berkeley, Los Angeles.
- GOODEY J.B., (1960). The classification of the Aphelenchoidea, FUCHS 1937. Nematologica, 5, 111-126.
- GOODEY T., (1963). Soil and Freshwater Nematodes. (Rev. by J.B. GOODEY from 1951 ed.) 2nd. Ed. 544 p. WILEY, New-York.
- GOODEY J.B. and HOCOPER D.J., (1965). A neotype of Aphelenchus avenae Bastian, 1865, and the rejection of Metaphelenchus Steiner 1943. Nematologica, 11, 55-65.
- HANSEN Eder, BUECHER E.J., EVANS A.A.F., (1970). Axenic culture of Aphelenchus avenae. Nematologica, 16, 328.
- HANSEN Eder L. EDWARD J. BUECHER and Evangeline A., YARWOOD, (1972). Sex differentiation of Aphelenchus avenae in axenic culture. Nematologica, 18, 253-260.
- JAKOB H., (1969). Maladies cryptogamiques des jeunes cotonniers en Egypte ; Pflanzenschutz - Nachrichten Bayer, 22, (2), 255-298.
- JOUAN B., LEMAIRE J-M., (1970). Possibilités de lutte biologique contre Rhizoctonia solani KUHN. Ann. Phytopathologie, 2, (1), 264.
- JOUAN B., LEMAIRE J-M., PERRATON B., M-Th. SANSON (sous presse). Modifications des biocénoses du sol. I. Etude préliminaire de l'influence de l'incorporation de substrats nutritifs au sol et ses conséquences pour l'évolution d'agents phytopathogènes d'origine tellurique.
- KEROMNES J-C., (1973). Contribution à l'étude de la dégradation des déchets solides dans le cas d'une décharge de produits broyés. Mémoire de fin d'études. E.N.S.A. - Rennes.
- KHOURI F., et BALLAR M., (1970). Rapport sur la maladie des fontes de semis du cotonnier en Syrie (Arabe). Département de recherches pour la protection des végétaux. R.A.S. ALEP.
- KIRBY R.H., (1963). Vegetable fibres: botany cultivation and utilization. Léonard HILL (BOOKS) Limited. London 1963, 464 p.
- KLINK J.W., (1966). Effect of population density of Aphelenchus avenae on the development of root rots on Bean and Pea. Nematologica, 12, (94) Abstract.
- KLINK J.W., BARKER, (1968). Effect of Aphelenchus avenae on the survival and pathogenic activity of root-rotting fungi. Phytopathology, 58, (2), 228-232.

- KO W.H. and FRANCES K. HORA, (1971). A selective medium for determining population of R. solani in soil. Phytopathology, 61, (8), 899.
- LABOUCHEIX J., (1965). Rapport de mission en Syrie juillet-août 1965. Institut de Recherches du Coton et des textiles exotiques. Paris.
- LEACH L.D. and GARBER R.H., (1970). Control of Rhizoctonia in "Rhizoctonia solani. Biology and Pathology". 189-198. Edited by John R. PARNETER Jr. Univ. California Press-Berkeley, Los Angeles and London.
- LEMAIRE J-M. et JOUAN B., (1966). Modifications microbiologiques entraînées par la mise en culture de sols nouvellement défrichés. Incidences sur l'installation de l'Ophiobolus graminis SACC. = (Linocarpon cariceti BOUDIER) et du Streptomyces scabies (THAXT) WAKSMAN et HENRICI. Ann. Epiphyties 17, (3), 313-333.
- LEMAIRE J-M., JOUAN B., (1970). L'utilisation de substrats à base de protéines pour lutter contre le Piétin-échaudage des céréales. Ann. Phytopathologie, 2, (1), 263.
- Le Livre annuel du Coton syrien. Publié par le Comité supérieur du festival du Coton et l'Etablissement général pour l'égrénage et la commercialisation du coton. (Arabe). R.A.S. ALEP., 1970, 257 p.
- LLYOD A.B., NOVEROSKE R.L., and LOCKWOOD J.L., (1965). Lysis of fungal mycelium by tryptomycetes spp. and their Chitinase systems. Phytopathology, 55, (8), 871-875.
- LOCKWOOD J., (1964). Soil fungistasis. Annual review of Phytopathology, 5, (2), 341-362.
- LUC H., (1958). Les nématodes et le flétrissement des cotonniers dans le Sud-Ouest de Madagascar. Coton et fibres tropicales, 13, 239-256.
- MACARON J., (1972). Contribution à l'étude de nématode mycophage. Tylenchulus semipenetrans GOBB. 1913. (Nematoda Tylenchida). Thèse Sc. Nat. Univ. Sc. Technique du Languedoc. Académie de Montpellier 190 p.
- MANIKAU R., (1962). The effect of some organic additives upon a soil nematode population and associated natural enemies. Nematologica, 7, 65-73.
- MANIKAU R., MANIKAU S.K., (1963). The role of mycophagous nematodes in the soil. I. The relationship of Aphelenchus avenae to phytopathogenic soil fungi. in "Soil Organisms". Edited by J. DOEKSEN. J. Van der DRIFT. Amsterdam, North-Holland publishing. Co. 453 p.
- MANIKAU R., (1969a). Toxicity of culture filtrates of Aspergillus niger to the mycophagous nematodes Aphelenchus avenae. Phytopathology, 59, (1), 13.
- MANIKAU R., (1969b). Nematicidal activity of Aspergillus niger culture filtrates. Phytopathology, 59, (8), 1170.
- MAURER C.L. and BAKER R., (1965). Ecology of plant pathogens in soil. II. Influence of glucose, cellulose, and inorganic nitrogen amendments on development of bean root rot. Phytopathology, 55, (1), 69-72.

- Mc LEOD R.W., (1968). The effects of Aphelenchoides saprophilus, A. coffeae : Aphelenchus avenae and Panagrolaimus sp. on the cropping of cultivated muchroom. Nematologica, 14, (4), 573-576.
- MESSIAEN C.M., MAS P., BEYRIES A., VENTRAN H., (1965a). Recherches sur l'écologie des champignons parasites dans le sol. IV. Lyse mycélienne et forme de conservation dans le sol chez les "Fusarium". Ann. Epiphyties, 16, (2), 107-128.
- MESSIAEN C.M. et BEYRIES A., (1965b). Estimation du taux d'infestation d'échantillons de terre par des souches virulentes de Rhizoctonia solani. Application à l'étude de l'effet d'amendements organiques. Phytia-trie-Phytopharmacie, 14, (4), 183-191.
- MYERS R.F., (1967). Axenic cultivation of plant parasitic nematodes. Nematologica, 13, 323.
- NICHOLAS W.L. and RITVA JANTUNEN, (1964). Caenorhabditis briggsae (Rhabditidae) under anaerobic conditions. Nematologica, 10, 409-418.
- PAPAVIZAS G.C., and DAVEY C.B., (1962a). Activity of Rhizoctonia in soil as affected by carbon dioxide. Phytopathology, 52, (8), 759-766.
- PAPAVIZAS G.C. and DAVEY C.B., (1962b). Isolation and pathogenicity of Rhizoctonia saprophytically existing in soil. Phytopathology, 52, (8), 834-840.
- PAPAVIZAS G.C., LEWIS J.A. and ADAMS P.B., (1968). Survival of root-infecting fungi in soil. Influence of amendment and soil carbon-to-nitrogen balance on fusarium root rot of Beans. Phytopathology, 58, (3), 365-372.
- PARK D., (1963). The ecology of soil-borne fungal disease. Annual Review of Phytopathology, 5, 241-258.
- PAYEN J., (1965). La méthode des appâts et ses applications en phytopathologie. I. définition, revue bibliographique et applications à la prévision de la fonte du semis de Betterave. Bull. Ec. nation. Sup. agron. Nancy, 7, (1), 29-54.
- PETERSEN James J., OSBORNE R. WILLIS, (1972). Mass production nematodes. Agricultural research, U.S. Department of agriculture, May 1972.
- PILLAI J.K., TAYLOR D.P., (1967a). Influence of ten fungus species on morphometric of five mycophagous nematodes. Nematologica, 13, (149), abstract.
- PILLAI J.K., TAYLOR D.P., (1967b). Influence of fungi on host preference, host suitability and morphometrics of five mycophagous nematodes. Nematologica, 13, 529-540.
- POCHON J., TARDIEUX P., (1962). Technique d'analyse en microbiologie du sol. Editions de la Tourelle, Paris.
- RHOADES H.L., LINFORD M.B., (1959). Control of Pythium root rot by the nematode Aphelenchus avenae. The plant disease reporter, 43, (3), 323-328.

- ROY A.K., (1973). Effects of Aphelenchus avenae on tomato plants infected with Rhizoctonia solani and Colletotrichum coccodes. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und pflanzenschutz., 80, (1), 23-35.
- SCHINDLER A.F., and ROBERT N., STEWART, (1956). Fusarium wilt of carnations retarded by fungus-eating nematodes Ditylenchus spp. Phytopathology, 46, 469 (abstract).
- SHEPHERD A.M., and CLARKE A.J., (1971). Molting and hatching stimuli, in "Plant Parasitic Nematodes". II. Edited by B.M. ZUCKERMAN W.F. MAI and R.A. RHODE. Academic Press New-York and London.
- SNEH B., KATAN J., and HENIS Y., (1971). Mode of inhibition of Rhizoctonia solani in chitin amended soil. Phytopathology, 61, (9), 1113-1117.
- SUTHERLAND and J. André FORTIN, (1968). Effect of the nematode Aphelenchus avenae on some ectotrophic, mycorrhizal fungi and on a Red Pin mycorrhizal relationship. Phytopathology, 58, (4), 519-523.
- THORNE G., (1961). Principles of nematology, 553 p. Mc GRAW-HILL. Pub. in the Agricultural, Sciences. New-York.
- VAARTAJA O., AGNIHOTRI V.P., (1967). Inhibition of Pythium and Thanatophorus (Rhizoctonia solani), by leachatis from a nursery soil. Phytopathology, Z.t., 60, (1), 63-72.
- WEINHOLD A.R. et MOTTA J., (1973). Initial host response in Cotton to infection by Rhizoctonia solani. Phytopathology, 63, (1), 157-162.
- WENT W. FRITS et al., (1969). "Life - Le monde vivant" (les plantes). Collections Time-Life.
- Annual climatological data (1965-1970). Ministry of Defence. Meteorological Department - DAMASCUS - SYRIA.

VU :

Le Président de la Thèse

M. VILLERET

VU :

Le Directeur de Thèse

M. VILLERET

VU et APPROUVE

RENNES, le 7 Mars 1974

Le Directeur de l'U.E.R.

" Sciences du Comportement et de l'Environnement "
G. RICHARD

VU et PERMIS D'IMPRIMER n° 136 C

RENNES, le 1er Avril 1974

Le Président de l'Université de RENNES

C. CHAMPAUD.

